الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية طب الأسنان
قسم النسج والتشريح المرضي

تحري دور الغرانزيم ب في بعض الآفات الفموية محتملة الخباثة والسرطان شائك الخلايا الفموي

Investigating the Role of Granzyme B in some Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Squamous Cell Carcinoma

رسالة مقدمة لنيل درجة الماجستير في علوم طب الأسنان
اختصاص النسج والتشريح المرضي الخاص بالفم والأسنان

اعداد:

الباحثة جنان امجد خدام

إشراف:

المدرس الدكتور ممدوح المحارب

مدرس في قسم علم النسج والتشريح المرضي الفموي

كلية طب الأسنان – جامعة دمشق

2025 م

كلمة شكر وتقدير

أتوجه بخالص الشكر والتقدير للسادة أعضاء اللجنة المحترمين على وقتهم الثمين وجهودهم القيمة في مناقشة هذه الرسالة، وتوجيهاتهم البناءة التي أثرت معرفتي وأضافت للعمل قيمة كبيرة.

كل حياة قصة،شكراً للأستاذ المشرف المدرس الدكتور ممدوح المحارب لكونه جزءاً من قصة نجاحي عبارات الشكر تخجل منك كل الامتنان لك ولوقتك الثمين الذي لم تبخل به للحظة.

إلى الأستاذة الفاضلة أميرة النور التي كانت خير عون وسند في مسيرتي الدراسية إلى من ارتقت بنا إلى أعلى درجات العلم والمعرفة شكراً من القلب لجهودك معي ومع زملائي.

إلى من كان المرجع لي ولطلاب القسم جميعاً من ساعد ولم يكل أو يمل من سؤال أو استفهام إلى الدكتور ماهر عساف شكراً لك.

أهدي هذا النجاح إلى من كان الأول دوماً في مساندتي وتشجيعي إلى رفيق الدرب وصديق الأيام من شاركني لحظات النجاح والفشل زوجي الغالي محمد.

عندما لاتكفي الكلمات للتعبير وتقف الأقلام عن الكتابة هنا أتحدث عن العائلة أبي أمي وأخي هذه ثمرة جهودكم ودعواتكم لي والتي كانت خير معين أهدي هذا النجاح لكم.

قائمة المحتويات

Table of Contents

الصفحة	
1	الملخص
3	الجزء التمهيدي
4	1- المقدمة
4	2- مشكلة البحث
4	3- تساؤلات البحث
4	4- فرضيات البحث
5	5- مسلمات البحث
5	6- أهداف البحث
5	7- مبررات البحث
5	8- المصطلحات
5	9- محدوديات البحث
6	المراجعة النظرية
7	1-1- الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة.
7	1-1-1 تعريف الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة .
7	1-1-2 وبائيات الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة.
10	1-1-3 سوء التصنع الظهاري الفموي.
13	1-1-2الطلاوة الفموية.
13	1-1-2-2 الأسباب والوبائيات
13	1-1-2-3 المحددات السريرية للتحول الخبيث
16	1-1-2-4 المظاهر السريرية للطلاوة الفموية
18	1-1-2-5 المظاهر النسيجية للطلاوة الفموية
19	1-1-2-6 تدبير وعلاج الطلاوة الفموية
20	1-1-3 الحزاز المسطح الفموي
20	1-1-3-1 تعريف الحزاز المسطح الفموي
20	1-1-3-2 الخصائص السريرية للحزاز المسطح الفموي

1-1-3-3الآلية الإمراضية	23
1-1-3-4 الوبائيات	24
1-1-3-5 المظهر النسيجي المرضي للحزاز المسطح الفموي	24
1-1-3-6 تدبير وعلاج الحزاز المسطح الفموي	25
1-2 السرطان شائك الخلايا الفموي	25
1-2-2 وبائيات السرطان شائك الخلايا الفموي	26
1-2-3 عوامل الخطر للإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي	26
1-2-4 موقع الإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي	27
1-2-5 المظاهر السريرية للسرطان شائك الخلايا الفموي	27
1-2-6 المظهر النسيجي المرضي للسرطان شائك الخلايا الفموي	28
1-2-7 معالجة السرطان شائك الخلايا الفموي	31
1-2-8إنذار السرطان شائك الخلايا الفموي	31
1-3 الغرانزيم ب	31
1-3-1 تعريف الغرانزيم ب	31
1-3-2 البنية الكيميائية للغرانزيم ب	31
1-3-3 أهمية الغرانزيم ب	33
1-3-3-1 دوره في مكافحة الأورم	33
1-3-3-2 دوره في العدوى الفيروسية	33
1-3-4 آلية عمل الغرانزيم ب	29
1-3-4-1الإفراز من الخلايا القاتلة	29
1-3-4-2 دخول الغرانزيم ب إلى الخلية الهدف	30
1-3-4-3 تنشيط الكاسبيزات بواسطة الغرانزيم ب	30
1-3-4-4 عمل الغرانزيم ب عن طريق تفعيل مسار الميتوكوندريا	33
1-3-4-5 آلية عمل الغرانزيم ب داخل نواة الخلية	33
1-3-4-6 دور الغرانزيم ب في التحلل البروتيني لبروتينات (Housekeeping) في الستوبلازما	35
1-3-5 الأهمية العلاجية للغرانزيم ب	37
1-3-6 الدراسات السابقة	38

39	منهج البحث وأدواته
40	2-1تصميم الدراسة
40	2-2 وصف عينة البحث
41	2-3 مواد البحث
41	2-4 الأجهزة المستخدمة
42	2-5 طريقة العمل
42	2-5-1 طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين
43	2-5-2طريقة التلوين النسيجي الكيميائي المناعي
43	2-5-3 بروتوكول التلوين المتبع
45	2-5-4 تقييم العينة الشاهدة
45	2-5-5 معايير التلوين المناعي المعتمدة أثناء تقييم الخزعات النسيجية
47	2-5-6 الاختبارات والمقاييس الإحصائية المستخدمة في معالجة البيانات
48	النتائج والدراسة الإحصائية التحليلية
49	3-1 وصف العينة
52	3-1-1 توزع المرضى حسب الجنس
53	3-1-2 البيانات الوصفية لأعمار المرضى
54	3-2 المشاهدات الوصفية
63	3-3 الاختبارات الإحصائية للبيانات
63	3-3-1 تحديد حجم العينة
64	3-3-2 اختبار التوزيع الطبيعي لبيانات مجموعات الدراسة
64	3-3-2-1الإحصاء التحليلي
65	3-3-3 دراسة تعبيرية الغرانزيم ب في بعض الآفات الفموية محتملة الخباثة والسرطان شائك الخلايا الفموي
65	3-3-3-1 الإحصاء الوصفي

66	3-3-3-2 نوعية الفروق بين مجموعات الدراسة المتوزعة بحسب التشخيص النسيجي
68	3-3-3-3 الارتباط بين كم تعبير الغرانزيم ب و درجة السرطان شائك الخلايا الفموي
69	3-3-3-4الارتباط بين كم تعبير الغرانزيم ب و درجة سوء التصنع النسيجي الفموي
71	3-3-4 دراسة تعبيرية الغرانزيم ب في بعض الآفات الفموية محتملة الخباثة والسرطان شائك الخلايا الفموي تبعاً لكل من متغير العمر والجنس
71	3-3-4-1 الفروق بين الجنسين
72	3-3-4-2 الإحصاء التحليلي
72	3-3-4-3 دراسة الفروق بين الذكور و الإناث
73	3-3-4-4 الارتباط بين كم تعبير الغرانزيم ب و العمر
76	المناقشة
81	الاستنتاجات
83	المقترحات والتوصيات
83	1- التوصيات
84	2- المقترحات

قائمة الأشكال(List of figures)

رقم الشكل	وصف الشكل	الصفحة
1	طلاوة بيضاء متجانسة تشمل الحواف الجانبية للسان.	17
2	طلاوة بيضاء غير متجانسة في باطن الخد(تغيرات بيضاء وحمراء).	17
3	طلاوة غير متجانسة نمط مبرقش.	17
4	طلاوة غير متجانسة نمط عقيدي.	17
5	طلاوة غير متجانسة نمط ثؤلولي.	17
6	طلاوة فموية تحوي سوء تصنع بشروي البسيط .	19
7	طلاوة فموية تحوي سوء تصنع بشروي متوسط.	19
8	طلاوة فموية تحوي سوء تصنع بشروي شديد.	19
9	النمط الشبكي للحزاز المسطح الفموي في مخاطية الخد.	22
10	النمط الضموري للحزاز المسطح الفموي في مخاطية الخد.	22
11	النمط التآكلي للحزاز المسطح الفموي في مخاطية الخد.	22
12	النمط اللويحي للحزاز المسطح الفموي على سطح اللسان.	22
13	الحزاز المسطح الفموي حيث تظهر البشرة الفموية المطبقة وارتشاح الخلايا اللمفاوية الكثيفة.	25
14	يمكن رؤية العديد من بقايا الخلايا المتقرنة على شكل تكثف ايوزيني (الأجسام الغروانية Colloid Bodies) في الظهارة والنسيج الضام في الحزاز المسطح الفموي .	25
15	سرطان شائك الخلايا الفموي في اللسان مع حواف مقلوبة للورم.	28
16	سرطان شائك الخلايا الفموي في اللسان ذو نمو خارجي.	28
17	سرطان شائك الخلايا الفموي في اللسان ذو النمو الثؤلولي.	28
18	مظهر نسيجي للسرطان شائك الخلايا الفموي(D)(C)(B)(A).	30
19	يوضح الآليات المختلفة لعمل الغرانزيم ب في الموت الخلوي المبرمج.	37
20	يوضح اختبار فعالية الملون المناعي في خلايا العقدة اللمفية تكبير *10.	43

21	يوضح تقسيم الساحة إلى أربع أجزاء وعد الخلايا الموجودة في كل جزء نسبة إلى العدد الكلي ومن ثم حساب المتوسط الحسابي.	46
22	تلوين تقليدي لسرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى جيد التمايز بتكبير x40 حيث يوضح التمايز الجيد للخلايا مع وجود كرات التقرن.	54
23	تلوين تقليدي لسرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثانية متوسط التمايز بتكبير x40 يظهر جزر وأعشاش من الخلايا الشاذة تنتشر في النسيج الضام مع وجود كرات تقرن واضحة.	54
24	تلوين تقليدي لسرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة ضعيف التمايز بتكبير x40 فقدان شبه تام للتمايز الخلوي ، لانمطية خلوية شديدة ونشاط انقسامي.	55
25	تلوين تقليدي للحزاز المسطح الفموي بتكبير x40 حيث نلاحظ تحلل الخلايا القاعدية وشريط من الخلايا اللمفاوية تحت البشرة.	55
26	تلوين تقليدي للحزاز المسطح الفموي بتكبير x10 نلاحظ تحلل الخلايا القاعدية وشريط من الخلايا اللمفاوية تحت البشرة.	56
27	تلوين تقليدي لسوء التصنع النسيجي الفموي الشديد بتكبير x40 نلاحظ انتشار اللانمطية الخلوية عبر معظم سماكة الظهارة، لانمطية نووية،انقسامات غير طبيعية	56
28	الشكل 28 : تلوين تقليدي للبشرة اللثوية الطبيعية حيث تظهر خالية من الالتهاب (العينة الشاهدة)	57
29	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى بتكبير x10.	57
30	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات الدرجة الأولى للسرطان شائك الخلايا الفموي بتكبير x10.	58
31	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى بتكبير x40.	58
32	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثانية بتكبير x10.	59
33	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثانية بتكبير x40.	59

34	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة بتكبير x10.	60
35	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة بتكبير x40.	60
36	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة بتكبيرx40.	60
37	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة حزاز مسطح فموي بتكبير x10.	60
38	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة حزاز مسطح فموي بتكبيرX40.	61
39	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات سوء التصنع النسيجي الفموي الشديد بتكبيرx10.	61
40	تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات سوء التصنع النسيجي الفموي الشديد بتكبيرx40.	62
41	يوضح الحد الأدنى لحجم عينة البحث باستخدام برنامج G-powerحيث وجدنا أن 9عينات كحد أدنى لكل مجموعة مقبول بالاعتماد على حجم الأثر في الدراسة، تم رفع عدد العينات إلى 12 لكل مجموعة.	63

قائمة الجداول(List of Tables)

رقم الجدول	وصف الجدول	الصفحة
1	يوضح الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية لعام 2022.	8
2	يوضح الاضطرابات على مستوى الخلايا وعلى مستوى هندسة النسيج والمستخدمة في تشخيص سوء التصنع البشروي الفموي في نسخة منظمة الصحة العالمية لعام2022.	11
3	التوزع المئوي و التكراري لتوزع الخزعات بحسب نتائج الدراسة النسيجية.	49
4	التوزع المئوي و التكراري لتوزع الآفات محتملة الخباثة بحسب درجة سوء التصنع.	50
5	التوزع المئوي و التكراري لتوزع السرطان شائك الخلايا بحسب درجة الإصابة الورمية.	51
6	التوزع التكراري و المئوي لجنس المرضى المشاركين في الدراسة	52
7	البيانات الوصفية لأعمار المرضى المشاركين في الدراسة.	53
8	نتائج اختبار نمط توزع البيانات One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test لتحديد نمط توزع عينات الدراسة وذلك باختلاف الآفة النسيجية المشخصة.	64
9	البيانات الوصفية لكم تعبير الغرانزيم ب في مجموعات الدراسة.	65
10	نتائج اختبار One-way ANOVA لدراسة فروق متوسطات كم تعبير الغرانزيم ب بين مجموعات الدراسة.	66
11	مقارنات Post-hoc باستخدام اختبار Bonferroni بين كل مجموعتين على حدا لإيجاد الفروق الجوهرية بين متوسطات كم تعبير الغرانزيم ب في مجموعات الدراسة.	67
12	معامل ارتباط سبيرمان بين تعبير الغرانزيم ب و درجة السرطان شائك الخلايا الفموي	68
13	معامل ارتباط سبيرمان بين تعبير الغرانزيم ب و درجة سوء التصنع النسيجي الفموي.	70
14	البيانات الوصفية لكم تعبير الغرانزيم ب في مجموعة الذكور و مجموعة الإناث.	71

15	نتائج اختبار one-Sample Kolmogorov-Smirnov test لتحديد نمط توزع عينات الدراسة وذلك في مجموعتي الذكور والإناث.	72
16	اختبار t للعينات المستقلة للمقارنة بين متوسطات كم تعبير الغرانزيم ب في مجموعتي الذكور و الإناث.	72
17	معامل ارتباط بيرسون بين كم تعبير الغرانزيم ب و العمر.	73

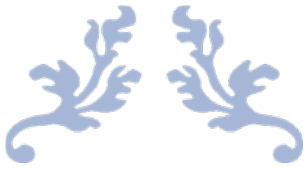
قائمة المخططات(List of Charts)

رقم	وصف المخطط	الصفحة
1	مخطط فطيرة يوضح توزع عينات الدراسة بحسب التشخيص النسيجي.	49
2	مخطط فطيرة يوضح توزع عينات مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي بحسب الدرجة.	50
3	مخطط فطيرة يوضح توزع عينات مجموعة سرطان شائك الخلايا بحسب درجة. الخباثة.	51
4	مخطط فطيرة يوضح توزع عينات الدراسة بحسب الجنس.	52
5	مخطط أعمدة يوضح المتوسط الحسابي لأعمار المشاركين في الدراسة.	53
6	مخطط أعمدة يوضح المتوسط الحسابي لكم تعبير الغرانزيم ب في الدراسة.	66
7	مخطط نقطي يوضح درجات السرطان شائك الخلايا على المحور y و قيم كم تعبير غرانزيم ب على المحور x في مجموعة سرطان شائك الخلايا، نلاحظ تجمع معظم النقاط المرسومة بالقرب من الخط المرسوم.	69
8	مخطط نقطي يوضح درجات سوء التصنع النسيجي على المحور y و قيم كم تعبير الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي . نلاحظ تجمع معظم النقاط المرسومة بالقرب من الخط المرسوم.	70
9	مخطط أعمدة يوضح المتوسط الحسابي لكم تعبير الغرانزيم ب في مجموعتي الذكور والإناث.	71
10	مخطط نقطي يوضح قيم العمر على المحور y و قيم كم تعبير الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة الحزاز، نلاحظ تجمع معظم النقاط المرسومة بالقرب من الخط المرسوم.	73
11	مخطط نقطي يوضح قيم العمر على المحور y و قيم كم تعبير الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي. نلاحظ وجود النقاط المرسومة بعيدة عن الخط المرسوم.	74
12	مخطط نقطي يوضح قيم العمر على المحور y و قيم كم تعبير الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي. نلاحظ وجود النقاط المرسومة بعيدة عن الخط المرسوم	75

قائمة الاختصارات

المصطلح باللغة العربية	المصطلح باللغة الانكليزية	الاختصار
السرطان الغدي /حال للأشواك/ السرطان الغدي الكاذب	Adenoid /Acantholytic/Pseudoglandular Squamous Cell Carcinoma	ADSCC
الموت الخلوي المبرمج	Apoptosis	AP
السرطان شائك الخلايا المشبه بالقاعدي	Basaloid Squamous Cell Carcinoma	BSCC
مسارات الموت	Death pathways	DP
الحزاز المسطح الفموي الشكل التآكلي الضامر	Erosive–Atrophic Forms Oral Lichen Planus	EA–OLP
الطلاوة المبرقشة	Erythroleukoplakia	ERLP
الصفائح الحمراء	Erythroplakia	EP
الغرانزيم ب	Granzyme B	GB
الطعم الفموي ومرض المضيف	Oral Graft Vs Host Disease	GVHD
الطلاوة المتجانسة	Homogeneous Leukoplakia	HL
الاستجابة المناعية	Immune Response	IR
الذئبة الحمامية	Lupus Erythematosus	LE
الحزاز المسطح الفموي الشكل غير التآكلي الضامر	Non–Erosive–Atrophic Forms Oral Lichen Planus	Non–EA–OLP
الطلاوة غير المتجانسة	Non–Homogeneous Leukoplakia	N–HL
الطلاوة العقدية	Nodular Leukoplakia	NL
الطلاوة البيضاء الفموية	Oral Leukoplakia	OL
الآفات المشبهة بالحزاز الفموية	Oral Lichenoid Lesions	OLL
الحزاز المسطح الفموي	Oral Lichen Planus	OLP
الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة	Oral Potentially Malignant Disorders	OPMDs
السرطان شائك الخلايا الفموي	Oral Squamous Cell Carcinoma	OSCC
التليف تحت المخاطي الفموي	Oral Submucous Fibrosis	OSF

OED	Oral Epithelial Dysplasia	سوء التصنع النسيجي الفموي
PSCC	Papillary Squamous Cell Carcinoma	السرطان شائك الخلايا الحليمي
PVL	Proliferative Verrucous Leukoplakia	الطلاوة الثؤلولية التكاثرية
ROS	Reactive Oxygen Speises	أنواع الأكسجين التفاعلية
SCSC	Spindle Cell/Sarcomatoid Carcinoma	سرطان الخلايا المغزلية/ السرطان العفلي
STK	Smokeless Tobacco Keratosis	تقرن التبغ غير المدخن
TC	Tumor Cells	الخلايا الورمية
TM	Tumor Microenvironment	البيئة الدقيقة للورم
VC	Verrucous Carcinoma	السرطان الثؤلولي
WHO	World Health Organization	منظمة الصحة العالمية



المراجعة النظرية

Literature Review

١-١الاضطرابات الفموية محتملة الخباثةOPMDs(Oral Potentially Malignant Disorders):

١-١-١تعريف الاضطرابات الفموية محتملة الخباثةOPMDs

(Oral Potentially Malignant Disorders) :

تشير الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة إلى مجموعة غير متجانسة من الآفات الفموية المحددة سريرياً مع خطورة متزايدة للتطور إلى سرطان شائك الخلايا الفموي، وغالبية هذه الآفات تكون مرئية أثناء الفحص السريري. (Muller & Tilakaratne, 2022a)

وحسب ال WHO: هي آفات تصيب الغشاء المخاطي للفم مع خطر التحول السرطاني لذلك يطلق عليها(OPMDs) Oral Potentially Malignant Disorders(منظمة الصحة العالمية ٢٠١٩).

تتظاهر الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة بأشكال مختلفة مثل: الطلاوة البيضاء(البقع البيضاء) الصفيحات الحمراء(البقع الحمراء)، الآفات الحنكية المرتبطة بالتدخين العكسي، الحزاز الفموي المسطح،التليف تحت المخاطي، الذئبة الحمامية، والتقران السفعي. (van der Waal, 2009)

معدل إصابة المرضى باضطرابات فموية محتملة الخباثة (والتي يشار إليها غالباً بمعدل التحول الخبيث) مختلفة في أنحاء العالم وترتبط ارتباطاً وثيقاً بنوع الآفة الفموية والعوامل السريرية والمرضية أو الجزيئية الأخرى بما في ذلك النوع اللون، الموقع والحجم، الجنس ودرجة سوء التصنع. (Warnakulasuriya)et al .,2011)

١-١-٢-وبائيات (OPMDs):

أظهرت الدراسات الوبائية أن ٤,٤٧٪ من سكان العالم قد يكون لديهم OPMDs، وقد تم تسجيل أن الحالات في سكان جنوب آسيا(Mello et al ,. 2018)

الرجال هم أكثر عرضة للإصابة ، ويرجع ذلك على الأرجح إلى ارتفاع معدل انتشار التبغ وتعاطي الكحول بينهم مقارنة بالنساء، قدرت دراسات مختلفة أن انتشار OPMDs يختلف بين السكان ويرتبط بشكل أساسي بالعادات ، غالبية حالات سرطان الفم تنشأ من OPMDs،و المعدل الإجمالي للتحول الخبيث Malignant (Transformation) ل OPMDs هو من ٧,٩٪ إلى ١٢,١٪ مما يشير إلى خطورة المشكلة. (Iocca et al ,.٢٠٢٠)

تم توسيع أنماط الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة (OPMDs) وسوء التصنع الفموي بشكل كبير لتعكس التقدم في النتائج السريرية والنسيجية والجزيئية . تمت إضافة آفات مشبهة بالحزاز الفموي ل OPMDs.–Ramos García .,2021)

يتم تحديد هذه الآفات على أنها آفات قد تشبه الحزاز المسطح الفموي و لايزال الحزاز المسطح الفموي مدرجاً ضمن قائمة OPMDsعلى الرغم من أن هذه القضية كانت مثيرة للجدل، وقد قامت العديد من المنشورات مؤخراً بتحسين السمات النسيجية والسريرية للآفات المشبهة بالحزاز الفموي لتمييزها عن الحزاز المسطح الفموي.(Warnakulasuriya et al.,2021)

الجدول (١) يوضح الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية لعام ٢٠٢٢:

الصفائح الحمراء Erythroplakia	هي في الغالب بقعة حمراء نارية والتي لا يمكن وصفها سريرياً أو مرضياً كأي مرض آخر يمكن تحديده.
الطلاوة المبرقشة(المختلطة) Erythroleukoplakia	آفة غير مؤلمة تتميز بتجمع مناطق بيضاء تتخللها مناطق حمراء مع احتمال التحول للخباثة.
الطلاوة البيضاء Leukoplakia	هي في الغالب بقعة أو لويحة بيضاء ذات مخاطر مشكوك فيها مع استبعاد الآفات والأمراض الأخرى التي تمتلك خطورة متزايدة للتحول إلى سرطان.
الطلاوة الثؤلولية التكاثرية (PVL) Proliferative Verrucous Leukoplakia	هي شكل سريري مرضي من الطلاوة البيضاء الفموية وتكون متعددة البؤر، ثابتة تقدمية، مع ارتفاع معدل النكس وخطر كبير للتحول إلى سرطان شائك الخلايا الفموي.

التليف تحت المخاطي الفموي(OSF) Oral Submucous Fibrosis	مرض مزمن خبيث يتميز بالتليف التدريجي للأنسجة تحت المخاطية في الحفرة الفموية مع خطر التحول إلى سرطان شائك الخلايا الفموي.
الآفات المشبهة بالحزاز الفموية Oral Lichenoid Lesions	آفات فموية ذات مظاهر مشبهة بالحزاز لكنها تفتقر إلى الشكل السريري والنسيجي لآفات الحزاز المسطح الفموي ، قد تظهر غير متماثلة أو كرد فعل لترميمات سنية أو لاستخدام دواء ما.
الحزاز المسطح الفموي (OLP) Oral Lichen Planus	مرض التهابي مزمن سببه غير معروف مع فترات نشاط وهجوع يتظاهر بآفات بيضاء شبكية قد تترافق مع ضمور أو تآكل أو تقرح أو بدونها و/أو مناطق ذات شكل لويحي ، الآفات متكررة ، ثنائية الجانب ومتناظرة.
تقرن التبغ غير المدخن (Smokeless Tobacco Keratosis)	هو آفة حميدة تتميز بوجود بقع أو حطاطات بيضاء أو رمادية وقد تكون شاحبة في الغشاء المخاطي للفم كرد فعل لاستخدام منتجات التبغ غير المدخن.
الآفات الحنكية المرتبطة بالتدخين العكسي Palatal Lesion Associated With Reverse Smoking	بقع بيضاء أو حمراء تصيب قبة الحنك الصلب (عند المدخن الذي يضع الجزء الملتهب من السيجارة في فمه) وهي آفات تشبه التهاب الفم الناتج عن النيكوتين، الغدد اللعابية الصغيرة ملتهبة وذات فتحات بارزة.

الطعم الفموي ومرض المضيف Oral Graft Versus Host Disease	يتظاهر سريرياً ونسيجياً بشكل مشابه للحزاز المسطح الفموي ويظهر نتيجة الرفض المناعي عند المريض بعد عملية زرع الخلايا الجذعية المكونة للدم.
الذئبة الحمامية Lupus Erythematosus	مرض مناعي يصيب النسيج الضام قد يتظاهر في الشفة أو داخل الحفرة الفموية بشكل منطقة حمامية محاطة بحواف بيضاء.

(Kumari 2022)

١-١-٣ سوء التصنع الظهاري الفموي (Oral Epithelial Dysplasia (OED:

هو مجموعة من التغيرات البشروية على المستوى البنيوي والخلوي ينتج عن تغيرات جينية متراكمة والتي تنشأ عادة في مجموعة من الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة وتشير إلى خطر التحول الخبيث إلى سرطان شائك الخلايا الفموي، يعتمد التشخيص بشكل أساسي على التغيرات الخلوية والبنيوية. (Rich et al .,2023)

يبقى التصنيف النسيجي لسوء التصنع البشروي الفموي الطريقة المخبرية الأساسية لتقييم خطر التحول الخبيث في الآفات الفموية محتملة الخباثة.(Odell et al ., 2021)

الجدول(٢):يوضح الاضطرابات على مستوى الخلايا وعلى مستوى هندسة النسيج والمستخدمة في تشخيص سوء التصنع البشروي الفموي في نسخة منظمة الصحة العالمية لعام ٢٠٢٢:

التغيرات الخلوية(Cytological Features)	
• تغيرات غير طبيعية في حجم النواة	Abnormal variation in nuclear size (anisonucleosis)
• تغيرات غير طبيعية في شكل النواة	Abnormal variation in nuclear shape (nuclear pleomorphism)
• تغيرات غير طبيعية في حجم الخلية	Abnormal variation in cell size (anisocytosis)
• تغيرات غير طبيعية في شكل الخلية	Abnormal variation in cell shape (cellular pleomorphism)
• زيادة نسبة النواة للهيولى	Increased N:C ratio
• انقسامات غير طبيعية	Atypical mitotic figures
• زيادة في الانقسامات	Increased mitotic activity
• زيادة حجم وعدد النويات	Increased number and size of nucleoli
• فرط الاصطباغ النووي	Nuclear Hyperchromasia
• تقرن الخلية المفرد	Single cell keratinization
• انقسامات الموت الخلوي المبرمج	Apoptotic mitosis
• زيادة الحجم النووي	Increased nuclear size

التغيرات على مستوى هندسة النسيج Architectural Features	
• تطبق غير نظامي للبشرة	Irregular epithelial stratification
• فقدان قطبية الخلايا القاعدية	Loss of polarity of basal cells
• الامتدادات البشروية تعطي مظهر القطرة	Drop-shaped rete ridges
• توسع الأجزاء المتكاثرة	Expanded proliferative compartments
• الانقسامات عالية في البشرة	Mitosis high in epithelium
• الانقسامات في الخلايا الناضجة	Mitosis in maturing cells
• التقرن المبكر المعمم	Generalized premature keratinization
• نقص الارتباط بين الخلايا البشروية	Reduced of epithelial cell cohesion
• لآلئ الكيراتين في الامتدادات البشروية	Keratin pearls in rete processes
• تعديل نمط الكيراتين للموقع الفرعي الفموي	Altered keratin pattern for oral sub-site
• الهندسة الحليمية أو الثؤلولية	Verrucous or papillary architecture
• امتداد التغيرات على طول قنوات الغدد الصغيرة	Extension of changes along minor gland ducts
• أنماط مختلفة ومتعددة من سوء التصنع	Multiple different patterns of dysplasia
• هامش محدد بشكل واضح للتغييرات	Sharply defined margin to changes
• آفات متعددة البؤر أو متناثرة	Multifocal or skip lesions
• أعشاش/ تجمع الخلايا القاعدية	Basal cell clustering / nesting

(Muller & Tilakaratne, 2022)

لاينصح بمصطلح سرطان موضعي في تجويف الفم ويعتبر مرادفاً لسوء التصنع الشديد. (Muller & Tilakaratne, 2022)

لذلك الكشف المبكر عن سوء التصنع في الاضطرابات محتملة الخباثة خطوة وقائية من التحول الخبيث وبالتالي التأثير على معدلات وفيات سرطان الفم. (Morikawa et al .,2019)

١-١-٢-الطلاوة الفموية Oral Leukoplakia (OL):

١-١-٢-١ تعريف:

هي لويحات بيضاء ذات مخاطر مشكوك فيها تظهر في الغشاء المخاطي للفم، بعد استبعاد الأمراض أو الاضطرابات المعروفة (الأخرى) والتي لا تحمل أي خطر متزايد للإصابة بالسرطان. (C. Zhang et al.,2023)

يقودنا هذا التعريف لاستبعاد الآفات البيضاء غير القابلة للكشط والتي يتم التعرف عليها بتشخيص واضح مثل الوذمة البيضاء ، الطلاوة المشعرة ، الحزاز المنبسط الفموي والوحمة الإسفنجية البيضاء . ويدلنا إلى خطورة تحول الطلاوة للسرطان شائك الخلايا الفموي بسبب طبيعتها المحتملة الخباثة حيث تحمل الطلاوة عوامل خطورة مرتفعة للتحول لسرطان في منطقة الآفة أو بالقرب منها أو أي مكان آخر في الحفرة الفموية أو ضمن منطقة الرأس والعنق. (van der Waal, 2015)

١-١-٢-٢ الأسباب والوبائيات Epidemiology and Etiology:

تصيب الطلاوة الذكور أكثر من الإناث وعادة ما تظهر في المرضى الذين تزيد أعمارهم عن ٤٠ عاماً. هناك اختلافات جغرافية في حدوث الطلاوة وانتشارها ، مع انتشار أعلى في جنوب شرق آسيا منه في الدول الغربية. (Rich et al., 2023)

ترتبط الطلاوة البيضاء الفموية بعوامل خطر مختلفة، مشابهة للعوامل المسببة للسرطان الفموي، مثل التبغ (سواء المدخن أو عديم الدخان)، واستهلاك الكحول بكثرة، ومضغ التنبول، والطلاوة البيضاء التي تتطور لدى المريض دون وجود عوامل مؤهبة يساهم الدور الجيني أو الوراثي بشكل أساسي في حدوثها. ,. Jayasooriya et al) 2020)

١-١-٢-٣- المحددات السريرية للتحول الخبيث Clinical Determinants Of Malignant Transformation:

لاتزال عوامل الخطر للتنبؤ بالتحول الخبيث في OPMDs يمثل تحدياً كبيراً (van der Waal, 2019).

ومن عوامل الخطر الرئيسية للتحول الخبيث :

١- الميل لإصابة الإناث: ميل الإصابة للجنس في الهند أكبر عند الرجال منه لدى النساء ، وذلك ربما بسبب ارتباطها بمضغ التبغ وعادات التدخين (Ranganathan & Kavitha, 2019)، بينما في شمال آيرلندا والدول الغربية الأخرى ، تكون أكبر لدى النساء منها لدى الرجال

(Speight et al 2018)

٢-الزمن(مدة طويلة بالإصابة بالطلاوة): عادة مانتطور السرطانات الناتجة عن آفات سوء التصنع على مدى فترة تتروح من٢إلى٥ سنوات، ولكن يمكن أن تحدث خلال فترة طويلة يختلف الإطار الزمني لهذه العملية ، ولكن يعتقد أنها عملية بطيئة نسبياً، مع حدوث تحول خبيث على مدى سنوات قليلة-Mogedas) Vegara et al ., 2016).

٣-الطلاوة البيضاء عند غير المدخنين (الطلوان مجهول السبب): الآفات لدى غير المدخنين أكثر عرضة ١:٧ مرة للتحول الخبيث مقارنة بالمدخنين الشرهين.(Napier & Speight, 2008).

٤-الموقع (الميل للسان و/أو أرضية الفم) : يعد قاع الفم و /أو السطح الجانبي للسان ذا مخاطر عالية للتحول الخبيث .(BARFI QASRDASHTI et al ., 2017)

٥-الحجم≤٢٠٠ مم² (Cowan et al ., 2001)

٦-النوع غير المتجانس : يعتبر المظهر غير المتجانس كعلامة مهمة للتحول الخبيث ، على الرغم من أن النوع السريري الأكثر شيوعاً من الطلاوة هو النوع المتجانس ، إلا أن حدوث التحول الخبيث يكون أعلى(١٣,١٪) بين الأنواع السريرية غير المتجانسة . الطلاوة السميكة المتجانسة تخضع لتحول خبيث في (٧٪-١٪) من الحالات. بمجرد أن يصبح السطح حبيباً أو خشناً تصبح إمكانية التحول الخبيث

(١٥٪-٤٪) . كما تحمل الصفائح الحمراء إمكانية تحول تبلغ ٢٨٪ ، لكن المعدلات تتفاوت من ١٨٪إلى ٤٧٪ في دراسات مختلفة.(Ranganathan & Kavitha, 2019)

٧- المحددات السريرية الأخرى: الطلاوة متعددة البؤر والطلاوة الثؤلولية التكاثرية ترتبط أيضاً بزيادة خطر التحول الخبيث ، كما يظهر تقدم العمر أيضاً كمحدد مهم للتحول الخبيث . ., Warnakulasuriya et al) ٢٠٢١)

١-١-٢-٤- المظاهر السريرية للطلاوة الفموية Clinical Manifestations Of Oral Leukoplakia:

تقسم الطلاوة الفموية لنمطين أساسيين تبعاً للمظهر السريري فإما أن تكون الطلاوة متجانسة أو غير متجانسة بناءً على اللون والشكل.

- الطلاوة المتجانسة Homogeneous Leukoplakia: تظهر على شكل بقع بيضاء موحدة ذات أسطح رفيعة (الشكل١) أو مسطحة أو مجعدة يمكن أن تظهر شقوقاً.
- الطلاوة غير المتجانسة Non-Homogeneous Leukoplakia: تبدي درجات متفاوتة من المظاهر المختلطة(الأحمر والأبيض) ،(الشكل ٢).
- وأكثر الآفات المختلطة شيوعاً :

١-الطلاوة المبرقشة The Speckled Leukoplakia تحتفظ في الغالب بطابعها الأبيض. (الشكل٣)

٢-الطلاوة العقدية The Nodular Leukoplakia ذات نتوءات صغيرة واندفاعات مستديرة حمراء أو بيضاء .(الشكل٤)

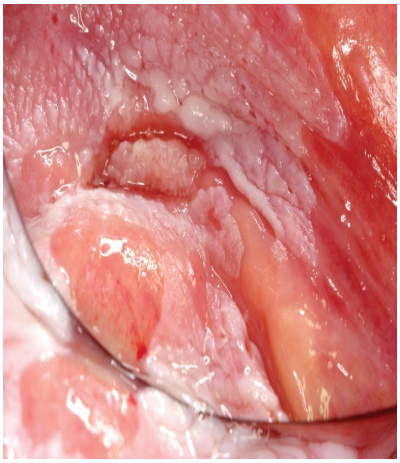
٣-الطلاوة الثؤلولية The Verrucous Leukoplakia ذات بقع بيضاء موحدة وأسطح مجعدة أو محززة. (الشكل٥) (van der Waal, 2019)

الشكل١: طلاوة بيضاء متجانسة تشمل الحواف الجانبية للسان(Eccles et al ., 2022)

الشكل٢: طلاوة بيضاء غير متجانسة في باطن الخد (تغيرات بيضاء وحمراء)(Mirbod & Ahing, 2000)

الشكل٣ : طلاوة غير متجانسة (مبرقشة) (van der Waal, 2019)

الشكل٤:طلاوة غير متجانسة نمط عقيدي (Ospanov & Bekishev, 1973)



الشكل٥: طلاوة غير متجانسة نمط ثؤلولي

(Ospanov & Bekishev, 1973)

١-١-٢-٥-المظاهر النسيجية للطلاوة الفموية Histological Manifestations Of Oral Leukoplakia:

تتظاهر الطلاوة الفموية نسيجياً بزيادة سماكة البشرة نتيجة زيادة عدد طبقات البشرة الشائكة بالإضافة إلى ظهور طبقة من نظير القرنين أو فرط تقرن وظهور درجات مختلفة من علائم سوء التصنع البشروي. (Dionne et al 2015)

إن علائم سوء التصنع التي تترافق مع خطورة في الطلاوة هي امتدادات بشروية بشكل دمعي وانقسامات شاذة وازدحام في الطبقة القاعدية واضطراب في طبقات البشرة وتقرنات فردية وتعدد أشكال النوى والخلايا وفرط اصطباغ النواة وتضخمها واضطراب نسبة النواة إلى الهيولى زيادةً أو نقصاناً ووضوح النويات.

(Dionne et al 2015)

هناك ثلاثُ درجاتٍ نسيجيةٍ لسوء التصنع البشروي يتم بواسطتها تقييم البشرات من قبل اختصاصي التشريح المرَضي وهي:(Dionne et al 2015)

١- سوء التصنع البشروي البسيط Mild Dysplasia:

تكون فيه علامات الكشم الخلوي بالحد الأدنى ومحدودة في الثلث السفلي من البشرة فقط.(الشكل٦)

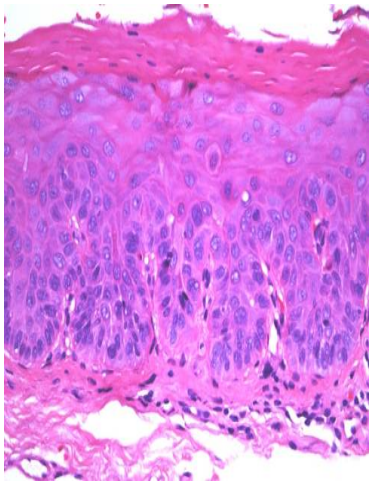
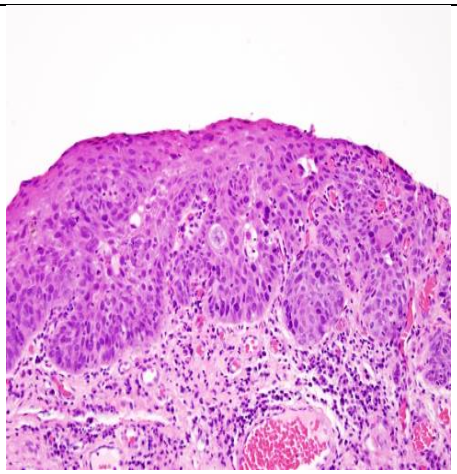
٢-سوء التصنع البشروي المتوسط Moderate Dysplasia:

تمتد فيه علائم الكشم الخلوي حتى نصف البشرة . (الشكل٧)

٣-سوء التصنع البشروي الشديد Sever Dysplasia:

تمتد فيه علامات الكشم الخلوي أكثر من ثلثي سماكة البشرة لتصل إلى كامل سماكة البشرة مع سلامة الغشاء القاعدي من التمزق.(الشكل٨)

(Speight, 2007)

		
الشكل٦: طلاوة فموية تبدي سوء تصنع بشروي بسيط Mild Dysplasia يمتد تقريباً إلى الثلث السفلي من البشرة(Speight, 2007)	الشكل٧: طلاوة فموية تبدي سوء تصنع بشروي متوسط Moderate Dysplasia يشمل ثلثي البشرة(Speight, 2007)	الشكل٨: طلاوة فموية تبدي سوء تصنع بشروي شديد Sever Dysplasia لانموذجية خلوية Cytological Atypia والأشكال الانقسامية العالية High Mitotic مع نظير التقرن Parakeratosis

١-١-٢-٦- تدبير وعلاج الطلاوة الفموية Management And Treatment Of Oral Leukoplakia:

تعتمد الحاجة للعلاج في المقام الأول على طبيعة آفات الطلاوة ، معظم الآفات تكون بدون أعراض وخطط العلاج هي منع التحول للخباثة ، وتشمل التدخلات المقترحة الاستئصال الجراحي بتقنيات مختلفة (المشرط، الجراحة بالتبريد، جراحة الليزر) (Lodi & Porter, 2008)، العلاجات الدوائية (موضعي أو جهازي) ،وقف العوامل الخطرة(التدخين والكحول)، والمتابعة (Lodi et al., 2016).

١-١-٣ الحزاز المسطح الفموي(Oral Lichen Planus (OLP:

١-١-٣-١ تعريف الحزاز المسطح الفموي (Definition Of Oral Lichen Planus (OLP:

هو مرض جلدي مخاطي التهابي مزمن متواسط برد فعل مناعي يصيب حوالي ١٪ من سكان العالم ، ويعتبر من الأمراض محتملة الخباثة في الحفرة الفموية ،انتشار المرض يكون أعلى عند النساء (نسبة الذكور إلى الإناث ١:١,٤) والفئة المستهدفة هي منتصف العمر ، ولكن تم الإبلاغ أيضاً عن حالات متفرقة في المرضى الأصغر سناً ، يتأثر الغشاء المخاطي للفم في ٥٠٪ من المرضى المصابين بآفات جلدية (Agha-Hosseini & Hafezi Motlagh, 2023)

١-١-٣-٢- الخصائص السريرية للحزاز المسطح الفموي Clinical Features Of Oral Lichen Planus:

قد يحدث في أي منطقة من التجويف الفموي ولكن الغشاء المخاطي الشدقي واللسان واللثة هي المناطق الأكثر شيوعاً للإصابة، تظهر الآفات الفموية على شكل حطاطات متقرنة متعددة ثنائية الجانب ومتماثلة. (Ślebioda et al .,2024)

عادة مايكون وجود الآفات مستمراً،على الرغم من أن الآفات لاتبقى في منطقة واحدة من الفم أو الجلد وتميل إلى الهجرة مع مرور الوقت ، يتم التعرف على الآفات من خلال فترات التعافي والنوبات. (Lucchese et al.,2022)

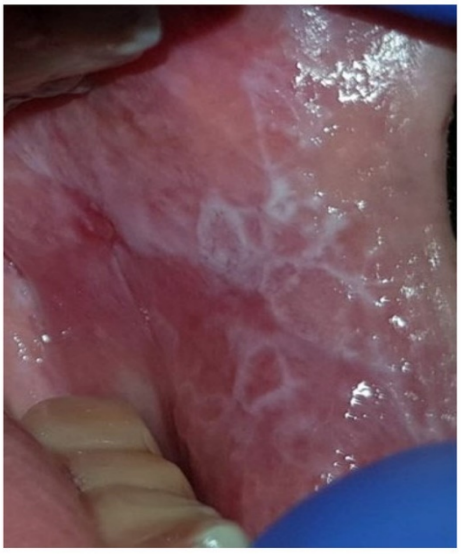
يتراوح الحزاز المسطح الفمويOLP بين آفات بيضاء شبكية بدون أعراض في الغشاء المخاطي إلى مناطق تآكلية متقرحة والسمة المميزة هي الخطوط على شكل الشبكة تدعى خطوط ويكهام Wickham.(**الشكل٩**) (Chiang et al.,2018)

يمكن أن يسبب الحزاز المسطح الفموي OLP تآكلاً عاماً في الغشاء المخاطي للفم مما يؤدي إلى حساسية تجاه الأطعمة الحارة أو الحمضية، وألم في الغشاء المخاطي للفم، وخشونته إضافة لتقلصه. (De Rossi & Ciarrocca, 2014)

سريرياً يوجد ستة أنواع مختلفة من الحزاز المسطح الفموي(OLP): الحطاطي، الشباكي ، اللويحي ، الضموري ، التآكلي ، الفقاعي والنوع الأكثر شيوعاً هو الشباكي.

يمكن تصنيف جميع أنواع الحزاز المسطح الفموي(OLP) إلى مجموعتين سريريتين عامتين:

- الأشكال التآكلية الضامرة (EA–OLP)erosive–atrophic forms ، بما في ذلك الأنواع التآكلية والضمورية (الشكل١٠ و١١) والفقاعية.
- الأنواع غير التآكلية الضامرة (Non–EA–OLP)non– erosive– atrophic types ، بما في ذلك الأنواع الحطاطية والشبكية والنوع اللويحي(الشكل١٢). الأشكال التآكلية الضامرة تكون أكثر عرضة للتغيرات الخبيثة من الأشكال غير التآكلية الضامرة. (Ślebioda et al .,2024)



الشكل٩: يوضح النمط الشبكي للحزاز المسطح الفموي في مخاطية الخد(Ślebioda et al .,2024)

الشكل ١٠:النمط الضموري للحزاز المسطح الفموي في مخاطية الخد(Ślebioda et al.,2024)

الشكل١١: يوضح النمط التأكلي للحزاز المسطح الفموي في مخاطية الخد(Gururaj et al., 2021)

الشكل ١٢:النمط اللويحي للحزاز المسطح الفموي على سطح اللسان(Gururaj et al.,2021)

١-١-٣-٣- الآلية الإمراضية Pathogenesis:

الآلية الإمراضية للحزاز المسطح الفموي غير واضحة بشكل كامل، وإن الآليتين الرئيسيتين المقترحتين هما آليات خاصة بمستضد معين وآليات غير محددة. (Roopashree et al., 2010)

تشير الآلية الخاصة بالمستضد إلى أن عرض المستضد بواسطة خلايا لانجرهانس أو الخلايا القرنية القاعدية يؤدي إلى تنشيط الخلايا التائية المساعدة CD4+، مما يحفز إطلاق السيتوكينات المعززة للالتهاب مثل عامل التنخر الورمي ألفا (TNF- α) والإنترفيرون جاما (IFNγ)، يؤدي ذلك إلى استجابة سمية متواسطة بالخلايا التائية السامة + CD8 ضد طبقة الخلايا القاعدية للبشرة مما يؤدي إلى الموت الخلوي المبرمج للخلايا القرنية عبر آليات TNF- α أو الجرانزيم أو الربيطة Fas-Fas ، تشير الآلية غير المحددة إلى أن تنشيط الخلايا البدينة يطلق وسائط معززة للالتهاب مثل البروتياز كما تقوم بتنظيم البروتينات المعدنية(MPPs) الحالة للمطرق الخلوي. يؤدي هذا إلى تسلل الخلايا التائية إلى الصفيحة الخاصة السطحية، وتمزق الغشاء القاعدي، والموت الخلوي المبرمج للخلايا القرنية في النهاية. (Olson et al., 2016)

تم افتراض أن الطبيعة المزمنة للحزاز المسطح الفموي OLP ترجع إلى تنشيط العامل النووي kappa (NF-KB) B وتثبيط مسار التحكم في عامل النمو المحول (TGF-β/Smad)، مما يؤدي إلى فرط التقرن وظهور آفات بيضاء مميزة. (Santoro et al., 2003)

تم أيضًا افتراض أن تعدد الأشكال الجينية للجين المنظم لـ IFNγ هي عوامل خطر لتطوير الحزاز المسطح الفموي OLp. (Scully & Carrozzo, 2008)

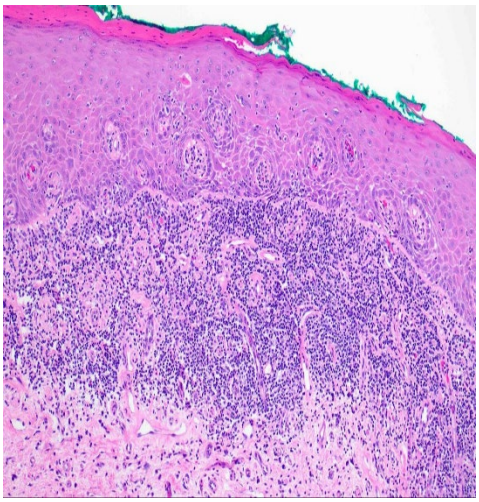
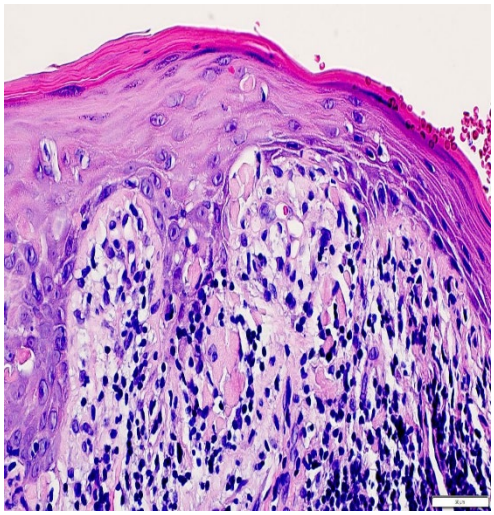
١-١-٣-٤-الوبائياتEpidemiology:

يقدر معدل الانتشار العالمي للحزاز المسطح الفموي OLP ب ١,٠١٪ ، وأظهر الانتشار الجغرافي أن أمريكا الشمالية وآسيا (خاصة الهند ٠,٤٩٪) لديها أدنى معدلات الحوادث بنسبة ٠,٤٧٪ و٠,٨٣٪ على التوالي، وفي الوقت نفسه، جنوب وسط أمريكا و أفريقيا وأوروبا لديها أعلى معدلات الإصابات (González-Moles et al.,2021).

١-١-٣-٥ المظهر النسيجي المرضي للحزاز المسطح الفموي The Histopathologic Features Of Oral Lichen Planus:

- تُظهر البشرة الرصفية المطبقة لمخاطية الفم طبقة سطحية سميكة من النمط نظير التقرن ، وتكون الخلايا اللمفاوية التائية (رشاحة لمفاوية تائية غزيرة) بتماس مع الغشاء القاعدي (تحته مباشرة) ، وتبدو كأنها تشكل طوقاً حول الغشاء القاعدي وهذا مايميز الحزاز المسطح الفموي ويكون الغشاء القاعدي متعرجاً (الشكل ١٣) ، أما في الحزاز الجلدي ، فتبدو المنطقة بين البشرة والنسيج الضام بشكل (Tooth Rete Ridge Pattern نمط أسنان المنشار، حيث تكون الامتدادات الإصبعية قصيرة وحادة، وحولها حزام من الخلايا اللمفاوية (Gorouhi et al .,2014)

- تنكس مائي في طبقة الخلايا القاعدية مع وجود سوء تقرن متناثر في الخلايا القرنية على طول الظهارة (الأجسام السيفاتية أو الغروانية أو الهيالينية،(Civatte,Colloid,Hyalin Bodies). (الشكل١٤) (Patigaroo et al.,2023)

	
الشكل١٣:الحزاز المسطح الفموي حيث تظهر البشرة الفموية المطبقة وارتشاح الخلايا اللمفاوية الكثيف (Patigaroo et al.,2023)	الشكل١٤: يمكن رؤية العديد من بقايا الخلايا المتقرنة على شكل تكثف ايوزيني (الأجسام الغروانيةColloid Bodies) في الظهارة والنسيج الضام في الحزاز المسطح الفموي OLP (Patigaroo et al.,2023).

١-١-٣-٦ تدبير وعلاج الحزاز المسطح الفموي Management And Treatment Of Oral Lichen Planus :

يركز العلاج الأولي على تخفيف الأعراض المؤلمة ، واستخدام الأدوية إذا لزم الأمر ، ومراقبة شفاء الآفات التقرحية لتقليل خطر التحول الخبيث بالإضافة إلى تحسين الأعراض والحفاظ على الصحة الفموية. (Kumari et al.,2022)

١-٢ السرطان شائك الخلايا الفموي(Oral squamous cell carcinoma):

هو ورم بشروي خبيث يصيب تجويف الفم وأكثر المناطق التي يصيبها الشفة والسطح الجانبي للسان والمخاطية الخدية وقاع الفم ، وهو ورم غاز يملك القدرة على إعطاء نقائل إلى العقد اللمفية ، يصيب السرطان عادة الأشخاص ذوي الأعمار المتقدمة والذكور بنسبة أعلى من الإناث. (Tan et al.,2023)

تم تحديث مفاهيم وتصنيفات السرطان شائك الخلايا الفموي بناءً على الأبحاث والتطورات الحديثة في علم الأورام. تشير الأدبيات الحديثة إلى أن هذا السرطان يتطور عادةً نتيجةً للطفرات الجينية التي تحدث في الخلايا الظهارية لمخاطية الفم، وقد يتأثر بعدد من العوامل البيئية والجينية. (Jagadeesan et al.,2024)

١-٢-٢ وبائيات السرطان شائك الخلايا الفموي Epidemiology Of Oral Squamous Cell Carcinoma:

يمثل السرطان شائك الخلايا الفموي حوالي ٩٠% من جميع حالات سرطان الفم، وله تأثيرات كبيرة على الصحة العامة، خاصة في الدول ذات المعدلات العالية من التدخين واستهلاك الكحول كجنوب آسيا. (Filho & Warnakulasuriya, 2024)

معدلات البقيا على قيد الحياة لمدة ٥ سنوات منخفضة تصل إلى ٤٠٪ ومع ذلك، إذا تم تشخيص المرض في المراحل المبكرة (الأولى والثانية) ، يمكن أن تتجاوز معدلات البقيا على قيد الحياة ٨٠٪ ، ومن ثم فإن الكشف المبكر عن الآفات السابقة للسرطان وتشخيصها وعلاجها إلزامي لمنع تحولها إلى سرطان شائك الخلايا الفموي OSCC وزيادة معدل البقيا على قيد الحياة لمدة ٥ سنوات (Abati et al .,2020)

١-٢-٣عوامل الخطر للإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي Risk Factors For Oral Squamous Cell Carcinoma:

يمثل التبغ والكحول عاملي خطر رئيسيين للإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي

١-التبغ : حيث أظهرت دراسات عديدة ارتباطاً وثيقاً بين استهلاك التبغ ومختلف مواقع السرطان شائك الخلايا في الرأس والعنق لدى النساء والرجال ، إن الاستمرار في تدخين التبغ يمثل عامل خطر رئيسي للتكرار وانخفاض معدلات البقاء على قيد الحياة في السرطان شائك الخلايا الفموي.

٢-الكحول: تنشأ التأثيرات المسرطنة للكحول من الإنتاج الداخلي للأسيت ألدهيد أثناء امتصاصه حيث يعتبر الأسيد ألدهيد الموجود في المشروبات الكحولية مادة مسرطنة للبشر.

٣-الإصابة بفيروس الورم الحليمي البشري HPV:هذا الفيروس مسؤول عن نسبة ٥٠٪ من الإصابات وخاصة في منطقة البلعوم واللوزات وبنسبة أقل في باقي مناطق الحفرة الفموية.

٤-الطفرات الجينية والأمراض الوراثية: مثل سوء التقرن الخلقي ومتلازمة بلوم وغيرها.

٥-العوامل الغذائية:أشارت العديد من الدراسات إلى أن اتباع نظام غذائي منخفض في الفواكه أو الكاروتينات أو الخضراوات يرتبط بارتفاع خطر الإصابة بالسرطان شائك الخلايا في الرأس والعنق.

(Nokovitch et al ., 2023)

١-٢-٤ موقع الإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي Site Of Oral Squamous Cell Carcinoma:

تعد الحدود الجانبية الخلفية للسان أكثر المناطق إصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي ، وهو يمثل مانسبته ٪٥٠من جميع حالات السرطان شائك الخلايا الفموي ، يليها قاع الفم ، والحنك الرخو، واللثة ، والغشاء المخاطي الشدقي ، والحنك الصلب. (Tan et al .,2023)

يعطي السرطان شائك الخلايا الفموي نقائل إلى العقد اللمفاوية في نفس جهة الإصابة عبر العود اللمفاوي، ولكن يمكن أيضاً أن يغزو الجانب المقابل أو العقد اللمفاوية الثنائية، وتعد الرئة والعظام والكبد مواقع نموذجية لانتشار نقائل السرطان شائك الخلايا الفموي. (Tan et al .,2023)

١-٢-٥ المظاهر السريرية للسرطان شائك الخلايا الفموي Clinical Manifestations Of Oral Squamous Cell Carcinoma :

تكون آفة السرطان شائك الخلايا الفموي عبارة عن آفة حمراء و بيضاء أو حمراء ذات سطح غير مستوٍ قليلاً وحدود غير واضحة ، وعادةً ما تكون آفات المرحلة المبكرة غير مؤلمة ، ولكنها قد تسبب عدم الراحة وتظهر عليها سمات مثل التقرح والمظهر العقيدي أو الثؤلولي ، والتقرح هو أحد الأعراض النموذجية للسرطان شائك الخلايا الفموي ، والذي يظهر بأرضية وحواف غير منتظمة ويكون قاسياً عند الجس.(الأشكال١٧- ١٦-١٥)

(Amezaga-Fernandez et al .,2024)

الشكل١٥:سرطان شائك الخلايا الفموي في اللسان مع حواف مقلوبة للورم
(Deshmukh & Shekar, 2021)

©Association of Oral and Maxillofacial Surgeons of India

الشكل١٦: سرطان شائك الخلايا الفموي في اللسان ذو نمو خارجي(Deshmukh & Shekar, 2021)

©Association of Oral and Maxillofacial Surgeons of India

الشكل١٧: سرطان شائك الخلايا الفموي في اللسان ذو النمو الثؤلولي(Deshmukh & Shekar, 2021)

١-٢-٦ المظهر النسيجي المرضي للسرطان شائك الخلايا الفموي Histopathological Appearance of oral squamous cell carcinoma:

عادة مايتم تصنيف الأورام وفقاً لخمسة جوانب مختلفة: الهوامش الغازية العميقة ، ونسبة الخلايا المتقرنة ، والتعدد الشكلي النووي ، ودرجة الغزو ، وشدة رد الفعل الالتهابي .

يعتمد نظام تصنيف منظمة الصحة العالمية World Health Organization (WHO) على نظام تصنيف برودر Broder Grading System الذي يعتمد على تشابه الخلايا السرطانية مع الأنسجة الأم وكمية القرنين المتكون. (Thamilselvan et al .,2024)

يتظاهر السرطان شائك الخلايا الفموي التقليدي OSCC نسيجياً بتخرب الغشاء القاعدي مع تكوين جزر وحبال من الخلايا البشروية الشائكة مختلفة في درجاتِ التمايزِ، وتكون هذه الجزر مرتشحة غازية متوضعة ضمن النسيج الضام ، وقد يُلاحظ وجود كرات التقرن المعكوس، بالإضافة إلى تكوين لحمة ضامة كثيفة حول الخلايا السرطانية ، وقد يُلاحظ انتشار رُشاحة لمفية غزيرة ضمن النسيج الضام (Regezi et al.,2016)

ويصنف هذا السرطان نسيجياً إلى عدة درجات :

-جيد التمايزWell Differentiated: تشبه فيه الخلايا التي تغزو النسيج الضام الخلايا الشائكة للبشرة ، ونلاحظ تشكل كرات التقرن.

-متوسط التمايز Moderately Differentiated: نلاحظ فيه تعدداً في أشكال النواة مع فعالية انقسامية عالية وانقسامات شاذة ويكون التقرن فيه قليلاً.

-قليل التمايزPoorly Differentiated: لانشاهد فيه خلايا ناضجة ، مع وجود انقسامات شاذة كثيرة ويكون التقرن فيه نادراً. (Pollaers et al.,2018)

استناداً إلى تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO المعتمد على نظام تصنيف برودر Broder grading system كما ذكرنا والذي يعتمد على تشابه الخلايا السرطانية مع الأنسجة الأم وكمية القرنين المتكون فإن معظم سرطانات تجويف الفم واللسان تكون متوسطة التمايز أو جيدة التمايز، إذ يكون السرطان شائك الخلايا الفموي ضعيف التمايز أقل شيوعاً، تتميز المظاهر النسيجية للسرطانات جيدة التمايز بحبال وجزر من الخلايا الكبيرة ذات الهيولى الأيوزينية والنواة المستديرة والتي قد لا تأخذ اللون بوضوح، مع سوء تقرن ولآلئ شائكة بارزة، ومع تقدم درجة الورم نلاحظ ازدياد في تعدد أشكال الخلايا والنوى، بالإضافة إلى فرط التصبغ النووي ، وزيادة الأشكال الانقسامية(بما في ذلك الأشكال الشاذة (El-Naggar et al.,2017)

في السرطانات شائكة الخلايا ضعيفة التمايز تكون خصائص التمايز الخلوية ضئيلة أو غائبة وتميل نسيجياً إلى إظهار نتوءاتٍ خشنةٍ أو إصبعيةٍ أو جزرٍ صغيرةٍ وخلايا فردية متفرقة، في حين تميل السرطانات جيدة التمايز إلى الغزو عبر جزر كبيرة (El-Naggar et al.,2017) (الشكل١٨)

ومن الناحية النسيجية ، هناك أيضاً أنماط أخرى مختلفة من OSCC يمكن أن يظهر السرطان شائك الخلايا التقليدي بعدة أشكال تشكل إجمالياً حوالي %(١٥-١٠) من جميع سرطانات شائكة الخلايا (SCC)، ومن بعض هذه الأنماط :

-السرطان الثؤلوليVerrucous Carcinoma (VC)

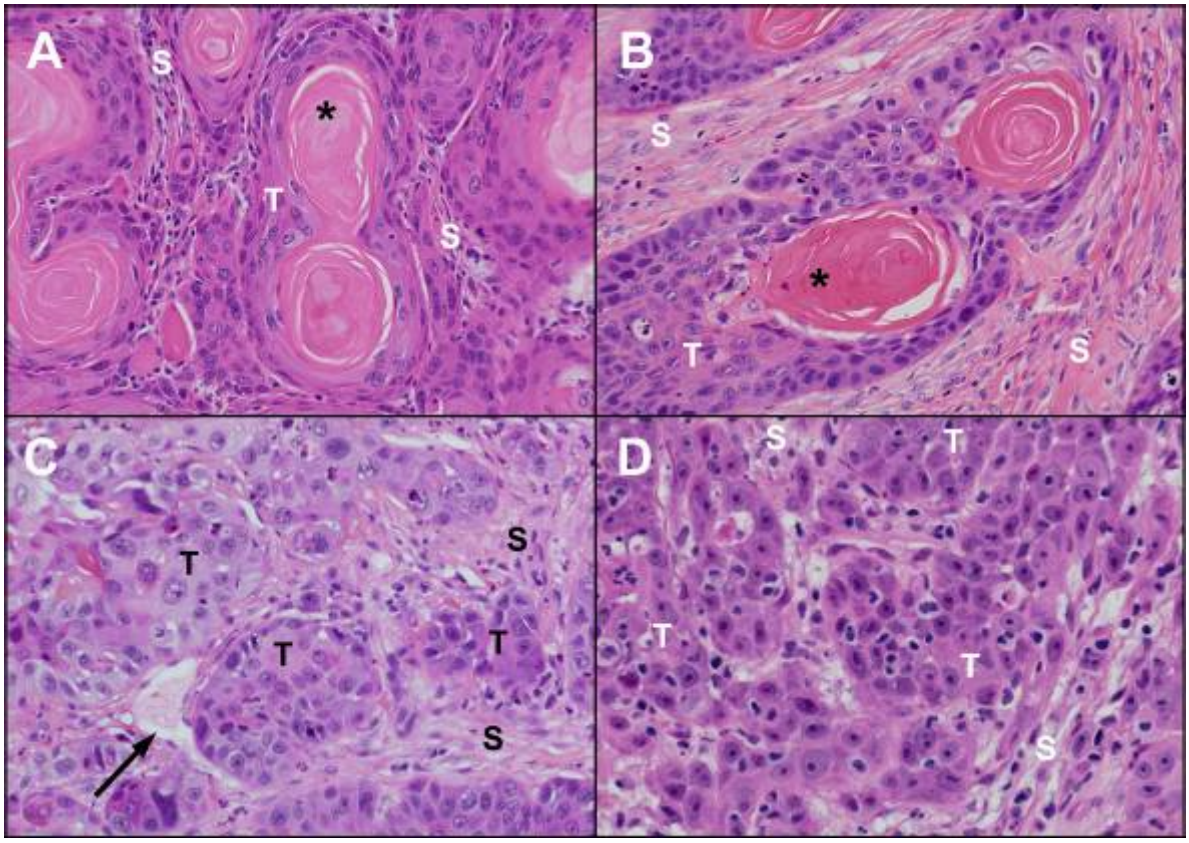
-السرطان شائك الخلايا الحليمي Papillary Squamous Cell Carcinoma(PSCC)

- سرطان الخلايا المغزلية/ السرطان العفلي Spindle Cell/Sarcomatoid Carcinoma(SCSC)

-السرطان شائك الخلايا المشبه بالقاعدي Basaloid Squamous Cell Carcinoma(BSCC)

-السرطان الغدي /حال للأشواك/ السرطان الغدي الكاذب Adenoid / Acantholytic/Pseudoglandular Squamous Cell Carcinoma(ADSCC)

-السرطان الغدي الشائكAdenosquamous Carcinoma(ASC)



الشكل ١٨: مظهر نسيجي للسرطان شائك الخلايا الفموي حيث (A)(B) مجموعات من الخلايا الظهارية الشائكة الخبيثة المتمايزة جيداً ونلاحظ تشكل "كرات تقرن مركزية(*) "
جزر خلايا OSCC محاطة بلحمة ضامة (S) والذي يتكون من نسيج ضام ليفي .
يتكون OSCC الأقل تمايزاً في (C) (D) من جزر غير منتظمة من الخلايا السرطانية (T) التي تفتقر إلى الترتيب المنظم ، يشار إلى الوعاء ذي الجدران الرقيقة بالسهم الأسود.
(Nasry & Martin, 2021)

١-٢-٧ معالجة السرطان شائك الخلايا الفموي Treatment Of Oral Squamous Cell Carcinoma:

بالنسبة لمعظم سرطانات التجويف الفموي تعد الجراحة العلاج الأولي المفضل ويضاف العلاج الإشعاعي أو الكيميائي بعد الجراحة إذا كان المرض متقدماً أو كان لديه سمات نسيجية عالية الخطورة ، المعالجة التعويضية مهمة بعد الاستئصال لتقليل الإعاقة الفموية الناتجة عن الجراحة الاستئصالية(Mohamad et al.,2023)

١-٢-٨ إنذار السرطان شائك الخلايا الفموي Oral Squamous Cell Carcinoma Prognosis:

معدل البقيا لمدة ٥ سنوات %(٥٠-٤٥) ، ولكن عندما يكون الورم متوضعاً وصغيراً فإن معدل البقيا يرتفع إلى %(٧٠-٦٠)، ويعتمد الإنذار على الدرجة النسيجية والمراحل السريرية للورم(Siegel et al.,2021)

١-٣الغرانزيم ب (Granzyme B):

١-٣-١تعريف الغرانزيم ب Definition Of Granzyme B:

هو أحد البروتينات التي تنتمي إلى عائلة الغرانزيمات والتي تشمل عدة أنواع (A,B,H,K,M) إلا أن الغرانزيم ب يلعب دوراً حاسماً في الاستجابة المناعية عن طريق تحفيز موت الخلايا المبرمج (apoptosis) في الخلايا المصابة بالفيروسات أو السرطان وهو بروتياز سيريني (serine protease) يفرز من الخلايا القاتلة الطبيعية NK (cells) والخلايا التائية السامة للخلايا (Cytotoxic T lymphocyte– CTLs) ويخزن في الحبيبات السيتوبلازمية.(Voskoboinik et al.,2015) ، (Cullen & Martin, 2008)

١-٣-٢البنية الكيميائية للغرانزيم ب Chemical Structure Of Granzyme B:

الغرانزيم ب هو إنزيم بروتيني ينتمي إلى عائلة البروتيازات السيرينية، ويُصنف تحديدًا ضمن الببتيدازات التي تستخدم حمض السيرين كمكون رئيسي في موقعها النشط (Lieberman, 2003). تتكون بنية الغرانزيم ب من سلسلة ببتيدية مفردة، غالبًا بطول يقارب ٢٤٧ حمضاً أمينياً، مع وجود ثلاثة أحماض أمينية رئيسية في الحجرة النشطة: هيستيدين، سيرين، وأسبارتات، والتي تعمل سوياً لتحفيز التحلل البروتيني للركائز داخل الخلية المستهدفة(Voskoboinik et al.,2015).

يمتاز هذا الإنزيم بوجود مناطق غليكوزيلية (glycosylations sites) تُساهم في ثباته البنيوي داخل الحبيبات السيتوبلازمية للخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا التائية السامة ، كما يحتوي على إشارة أولية تؤهله للدخول في المسار

الإفرازي داخل الشبكة الإندوبلازمية، ومن ثم يُخزَّن في الحبيبات الإفرازية حتى يتم إطلاقه عند تحفيز الخلية. (MBBS et al., 2019).

البنية الفراغية للغرانزيم ب تُظهر طيّة نموذجية لعائلة chymotrypsin-like serine proteases، هذه البنية تُعد حاسمة لوظيفة الإنزيم، حيث تُتيح له استهداف بروتينات داخل الخلية مثل pro-caspase-3 وBID، مؤديةً إلى تفعيل المسارات المؤدية لموت الخلية المبرمج (apoptosis)(Lieberman, 2003)

١-٣-٣ أهمية الغرانزيم ب The Importance Of Granzyme B:

١-٣-٣-١-دوره في مكافحة الأورام:

يُعد الغرانزيم ب عنصراً رئيسياً في القضاء على الخلايا السرطانية. (Voskoboinik et al .,2015)

١-٣-٣-٢-دوره في العدوى الفيروسية:

_ يلعب الغرانزيم ب دوراً حيوياً في إزالة الخلايا المصابة بالفيروسات، مثل فيروس الإنفلونزا وفيروس نقص المناعة البشري (HIV)، من خلال تحفيز موت الخلايا المصابة ومنع انتشار العدوى.

_ كما أن الاستجابة المناعية الفعالة تعتمد على كفاءة إفراز الغرانزيم ب.

(Trapani & Smyth, 2002)

١-٣-٤ آلية عمل الغرانزيم ب Mechanism Of Procedure Of granzyme B:

١-٣-٤-١-الإفراز من الخلايا القاتلة:

عند التعرف على الخلية الهدف (مثل خلية سرطانية أو مصابة بفيروس)، تقوم الخلايا التائية السامة أو الخلايا القاتلة الطبيعية بإعادة تنظيم هيكلها الداخلي لتوجيه حبيبات الإفراز المحتوية على الغرانزيم ب والبِيرفُورين نحو

نقطة الاتصال المناعي (immune synapse) ثم يتم إفراز الغرانزيمات إلى الفراغ بين الخليتين. (Chowdhury & Lieberman, 2008)

١-٣-٤-٢-دخول الغرانزيم ب إلى الخلية الهدف:

يُفرز الغرانزيم ب إلى خارج الخلية القاتلة مع البيرفورين، يقوم الأخير بتكوين ثقوب صغيرة مؤقتة في غشاء الخلية الهدف، مما يسمح للغرانزيم ب بالمرور إلى داخل السيتوبلازما، تشير الأدلة إلى أن الغرانزيم ب قد يدخل أيضًا عبر آليات مثل الالتقام (endocytosis) متبوعاً بتحريره من الحويصلات بوساطة البيرفورين. (Voskoboinik et al.,2015)

١-٣-٤-٣-تنشيط الكاسبيزات بواسطة الغرانزيم ب (Caspase Cascade Activation):

تفعّل معظم المسارات المؤدية إلى الموت الخلوي المبرمج مجموعة من بروتينات الكاسبيز، تُصنّف إلى نوعين:

-الكاسبيزات المنفّذة (مثل: ٧, ٦ , ٣).

-الكاسبيزات البادئة (مثل: ١٢, ١٠, ٩, ٨).

يؤدي تفعيل الكاسبيز ٣ و ٧ بواسطة الكاسبيزات البادئة إلى شطر مجموعة من الركائز داخل الخلية، مما يُطلق التغيرات الشكلية والكيميائية الحيوية المرتبطة بالموت الخلوي ،حيث أظهرت تقارير حديثة أن الكاسبيز ٧ يلعب دورًا في إنتاج أنواع من الأوكسجين التفاعلية ROS(Reactive Oxygen Species) وانفصال الخلايا عن بعضها البعض. (Safari et al .,2022)

دخول الغرانزيم ب إلى السيتوبلازما، يؤدي إلى شطر طليعة الكاسبيز ٣ إلى شكلها النشط ،ويُعد عاملاً مركزياً في تنفيذ الموت الخلوي المبرمج، يقوم الكاسبيز ٣ المُنشّط بواسطة الغرانزيم ب بشطر العشرات من الركائز الخلوية، من بينها ICAD (Inhibitor Of Caspase-Activated DNase) ، والذي يؤدي تحلله إلى إطلاق DNase النشط المعروف باسم(Caspase-Activated DNase) CAD، و المسؤول عن تحلل الحمض النووي داخل النواة ،

وأُبلغ أيضًا عن كاسبيزات أخرى مثل: ٢، ٦، ٧، ٨ ، ٩ ، و ١٠ تُعد أهدافًا مباشرة أو غير مباشرة للغرانزيم ب لكنها تسهم بشكل أكبر في تعزيز وتضخيم الموت الخلوي. (Pardo et al.,2008)

١-٣-٤-٤-عمل الغرانزيم ب عن طريق تفعيل مسار الميتوكوندريا:

يعد شطر بروتين Bid (BH3-interacting domain death agonist) إلى tBid بشكل مباشر بواسطة الغرانزيم B ضرورياً لنقل إشارة الموت الخلوي عبر الميتوكوندريا (Bid:هو أحد البروتينات التابعة لعائلة Bcl2 التي تنظم الموت الخلوي المبرمج ويصنف ضمن البروتينات المحفزة للموت)ويعد tBid الشكل الفعال لبروتين Bid الذي يتفاعل مع بروتيناتBAK, BAX(بروتينات موت خلوي مبرمج) على سطح الميتوكوندريا مما يسبب فتح المسام ويطلق العوامل المحفزة للموت، أو عن طريق تفعيل الغرانزيم ب لكل من البروتينات Mcl-1 , Bim وهما من عائلة (Bcl-2) ، (Kiselevsky, 2020)، (Li et al .,2025) ،فتح المسام وزيادة النفوذية يحفز إطلاق السيتوكروم C (Cyt c) وهو بروتين يحتوي على مجموعة هيم ، يصنع في السيتوبلازما كبروتين غير مكتمل (Apoprotein) ثم ينقل إلى المناطق البينية والغشائية الداخلية في الميتوكوندريا، حيث يعمل كمحور مهم في سلسلة التنفس الخلوي، عند تفعيل إشارات الموت يتم إطلاق السيتوكروم c إلى السيتوبلازما ويرتبط ب Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor 1) (عامل محول يفعل الكاسبيزات) مما يؤدي إلى تكوين بنية سباعية تعرف باسم الأبوبتوسوم(Apoptosome)(وهو مركب بروتيني ضخم ضروري لبدء سلسلة تنشيط الكاسبيزات وخاصة الكاسبيز ٩) في هذا الموقع يتم تنشيط الكاسبيز ٩، وبالتالي إطلاق سلسلة من الكاسبيزات المفعلة والتي تنتهي بتفكك الخلية والموت الخلوي المبرمج (Nguyen et al.,2023)

١-٣-٤-٥-آلية عمل الغرانزيم B داخل نواة الخلية:

بعد دخول الغرانزيم ب إلى الخلية بمساعدة البيرفورين، يمكن له الانتقال إلى النواة، حيث يتفاعل مع مكونات نووية محددة، ، ويعمل الغرانزيم ب على شطر البروتينات النووية داخل النواة، حيث يستهدف بروتينات نووية مهمة مثل:

PARP(Poly "ADP-ribose" polymerase)-1 بروتين يشارك في إصلاح الحمض النووي، ويؤدي شطره إلى تعطيل عملية الإصلاح .

2-(ICAD(Inhibitor Of Caspase-Activated DNase مثبط DNase، ويؤدي شطره إلى تحرير DNase وتفعيل DFF40/CAD، الذي يقوم بتقطيع DNA النواة إلى قطع منتظمة الحجم (nucleosomal fragments)، وهي علامة مميزة للموت الخلوي المبرمج .(Ko et al .,2007)

يشير الشكل ١٩: إلى كل من

DFFA(DNA Fragmentation Factor Subunit A)

DFFB(DNA Fragmentation Factor Subunit B)

وهي عوامل تقطيع الحمض النووي DNA والتي تفعل بواسطة الغرانزيم ب وتؤدي إلى الموت الخلوي المبرمج.

١-٣-٤-٦ دور الغرانزيم ب في التحلل البروتيني لبروتينات (Housekeeping) في السيتوبلازما:

يؤدي الغرانزيم ب دوراً محورياً في تحفيز موت الخلية المبرمج (Apoptosis)عبر استهداف بروتينات داخلية مهمة تشمل بروتينات (Housekeeping proteins)، والتي تُعتبر ضرورية لبقاء الخلية ووظائفها الحيوية. وعندما يقوم الغرانزيم ب بتحليل هذه البروتينات، يُسبب خللاً قاتلاً في البنية والوظيفة الخلوية، مما يؤدي إلى الموت الخلوي المبرمج .(Susanto et al.,2012)

يعبر عن بروتينات Houskeeping بشكل مستمر وبمستويات ثابتة في معظم أنواع الخلايا، لأنها ضرورية للحفاظ على الوظائف الخلوية الأساسية وبقاء الخلية على قيد الحياة، بغضّ النظر عن الظروف الخارجية أو نوع النسيج .

الوظائف الأساسية لـ Housekeeping proteins :

-تنظيم العمليات الحيوية العامة مثل:

١-الاستقلاب الخلوي (Metabolism).

٢-إنتاج الطاقة (ATP synthase).

٣-تكرار وترميم الـ DNA.

٤-الحفاظ على هيكل الخلية.

أمثلة على :Housekeeping proteins:

1- GAPDH (Glyceraldehde-3-Phosphate Dehydrogenase)إنزيم في مسار تحلل السكر (Glycolysis).

2-β-actin جزء من الهيكل الخلوي (Cytoskeleton).

3-Tubulin يُكوِّن الأنابيب الدقيقة (Microtubules).

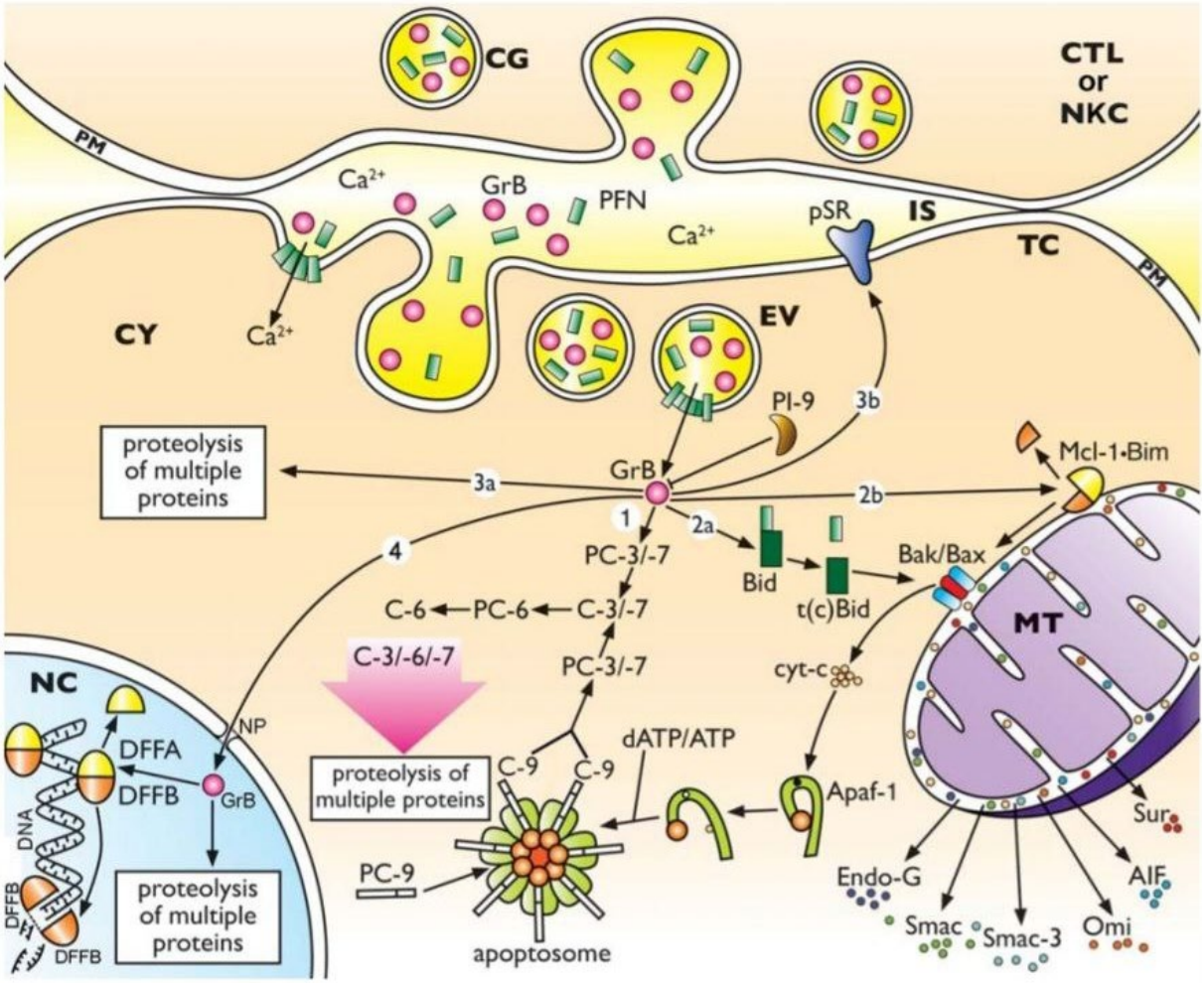
4-HPRT1 (Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase1) إنزيم في مسار البيورين.

5-RPLP0(Ribosomal Protein, Large, P0) بروتين ريبوزومي.

(Eisenberg & Levanon, 2013)

يوضح الشكل ١٩ جميع الآليات السابقة.

INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY 37: 1361-1378, 2010



الشكل ١٩: يوضح الآليات المختلفة لعمل الغرانزيم ب في الموت الخلوي المبرمج

١-٣-٥ الأهمية العلاجية للغرانزيم ب:

١-مؤشر حيوي للتنبؤ بالاستجابة للعلاج: أظهرت دراسة أن التعبير العالي للغرانزيم ب في بيئة الورم الميكروية يرتبط بتحسن البقاء على قيد الحياة، مما يجعله مؤشراً حيوياً مهماً للتنبؤ بالاستجابة للعلاج المناعي. (Mizoguchiet al.,2023)

٢-تطوير علاجات مستهدفة: تم تطوير بروتين اندماجي يُعرف بـ GrB-Fc-KS49، يجمع بين الغرانزيم ب وجسم مضاد موجه ضد بروتين EMP2 الموجود على سطح بعض الخلايا السرطانية. أظهر هذا المركب فعالية في تقليل حجم الورم وزيادة إرسال الخلايا المناعية إلى موقع الورم .(Mohamedali et al,2024)

٣-تعزيز فعالية العلاجات المناعية (Immunotherapies):

يمكن استخدام الغرانزيم ب لقياس نشاط الخلايا المناعية ضد الورم، مما يساعد على تقييم فعالية العلاج المناعي. (Larimer et al .,2017) ، كما يمكن تحسين علاجات السرطان المناعية مثل العلاجات المعتمدة على الخلايا التائية المعدلة وراثيًا(CAR–T cells)، حيث يمكن تعزيز قدرتها على إفراز الغرانزيم ب. (Voskoboinik et al.,2015)

١-٣-٦الدراسات السابقة (Previous Studies):

- أوضحت دراسة (Nadia Lago Costa,2010) أن المرضى المصابون بالسرطان شائك الخلايا الفموي ولديهم ارتفاعاً في نسب الغرانزيم ب المفرزة حيث كانت نسبة البقاء على قيد الحياة أعلى عند مقارنتهم بالمرضى الذين لديهم نسب منخفضة من إفراز الغرانزيم ب.
- أظهرت دراسة(Costa et al.,2011) تعبيريةً عاليةً للغرانزيم ب في الخلايا المصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي مقارنة بالخلايا السليمة كما أظهرت ارتفاع نسبة هذا الغرانزيم في الخلايا المصابة بسوء التصنع البشروي الفموي كالطلاوة.
- حسب دراسة سابقة (Filiz Namdar Pekiner ٢٠١٢) عن دور الغرانزيم ب في المرضى المصابين بالحزاز المسطح الفموي وجد أن هناك فارقاً احصائياً بين المرضى المصابين بالحزاز والمرضى السليمين حيث كانت نسبة الغرانزيم ب أعلى عند المصابين بالحزاز المسطح الفموي.
- أظهرت دراسة ل (González–Moles et al.,2020) وزملائه تعبيريةً عاليةً للغرانزيم ب في الحزاز المسطح الفموي حيث بدت التعبيرية بشكل أساسي أسفل الطبقة القاعدية للخلايا في مكان تسلل الخلايا التائية.
- أظهرت دراسة ل (Ito et al.,2023) وزملائه أن الكثافة العالية للخلايا التائية المتسللة للورم ارتبطت بتعبير عالي للغرانزيم ب وتحسن في البقاء على قيد الحياة لدى مرضى السرطان شائك الخلايا الفموي.
- أوضحت دراسة(Flores–Hidalgo et al .,2024) التعبير المرتفع للغرانزيم ب في آفات سوء التصنع الشديد مما يشير إلى الاستجابة المناعية القوية في هذه الآفات.

منهج البحث وأدواته

(Research Methodology)

2-1- تصميم الدراسة:

دراسة كيميائية مناعية نسيجية راجعة مقارنة أجريت على عينات مأخوذة من أرشيف قسم النسج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان في جامعة دمشق بالإضافة إلى أرشيف قسم التشريح المرضي للفم والوجه والفكين الخاص بمشفى المجتهد ومشفى اللاذقية الجامعي.

2-2 وصف عينة البحث:

تم جمع العينة المؤلفة من 40 خزعة نسيجية محفوظة في قوالب شمع البارافين، وقد تألفت العينة المدروسة من مجموعتين تم توزيعها على الشكل الآتي :

المجموعة الأولى والتي قسمت إلى :

4- خزعات للسرطان البشروي شائك الخلايا الفموي جيد التمايز (الدرجة الأولى Grade 1).

4- خزعات للسرطان البشروي شائك الخلايا الفموي متوسط التمايز (الدرجة الثانية Grade 2).

4- خزعات للسرطان البشروي شائك الخلايا الفموي سيء التمايز (الدرجة الثالثة Grade 3).

4-خزعات لسوء التصنع البشروي الفموي الخفيف Mild Dysplasia.

4-خزعات لسوء التصنع البشروي الفموي المتوسط Moderate Dysplasia.

4-خزعات لسوء التصنع البشروي الفموي الشديد Sever Dysplasia.

12-خزعة للحزاز المسطح الفموي Oral Lichen Planus

المجموعة الثانية (مجموعة العينة الشاهدة) : تألفت من 4 خزعات من النسج اللثوية السليمة ، أخذت من قسم جراحة الوجه والفكين في جامعة دمشق في أثناء العمل الجراحي لرحى ثالثة منطمرة بعد أخذ الموافقة الخطية من المريض والكادر الطبي المسؤول عن العمل الجراحي.

لم يتم إدخال العينة الشاهدة في التحليل الإحصائي لعدم تلونها بالغرانزيم ب (أي مجموعة سلبية القيم وبالتالي أي مجموعة أخرى متفوقة منطقياً على المجموعة الشاهدة).

أخذت من كل عينة من عينات البحث شريحتان وفق الآتي:

الشريحة الأولى : تم تلوينها بالتلوين التقليدي الهيماتوكسيلين والإيوزين للتأكد من صحة التشخيص.

الشريحة الثانية: لونت بالملون المناعي الغرانزيم ب (Granzyme B).

2-3 مواد البحث:

1-الكحول بتراكيز مختلفة .

2-الإكزيلول.

3-سلايدات زجاجية من شركة (sail brand) الصينية.

4-مواد التلوين بملونات الهيماتوكسيلين والإيوزين التقليدية.

5-بلسم كندا.

6-سواتر زجاجية رقيقة من نوع (citoglass).

7-مواد الملونات المناعية:

A-سلايدات زجاجية عليها لاصق مناعي من شركة Marienfeld الألمانية.

B-ظروف المحلول الداريء من شركةDAKO.

C- كيت التلوين المناعي المفرد من شركة Bio-SB الأمريكية ويضم:

Chromogen Solution –Dab Buffer-HRP Label-Peroxidase

Granzyme B Clone:EP230, (Rabbit Monoclonal)

F- قلم التحديد من شركة DAKO.

2-4 الأجهزة المستخدمة:

1- المبشرة النسيجية (Microtome) لقطع الأنسجة بثخانة رقيقة 4 ميكرونات من نوع Leicaالألمانية.

2-المحم المائي للحصول على الماء الفاتر بدرجة 45-40.

3-السخان من نوع (Leica-ألمانيا).

4-المايكرويف.

5- الممصات Pipette.

6-المجهر الضوئي نوع Nikon Olympus-Cx21-الياباني.

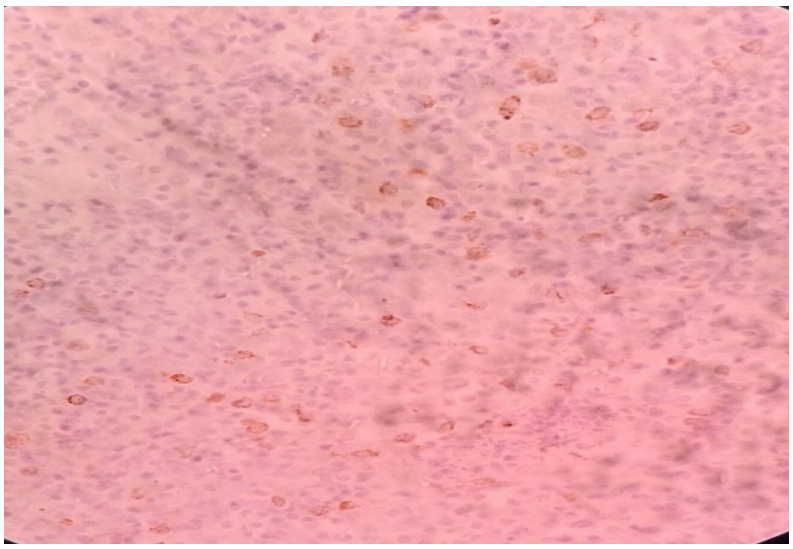
2-5 طريقة العمل:

2-5-1 طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين:

- ثُبت القالب الشمعي على المِبشَرة النسيجية وحُددت سماكة القطع ب 4 ميكرونات.
- فُرشت هذه المقاطع الشمعية في محم مائي يحوي ماء مقطر بدرجة حرارة حوالي 45-40 درجة مئوية لإزالة التجاعيد وتحميلها على الشرائح الزجاجية.
- تم وضع الشرائح الزجاجية في فرن التجفيف بدرجة حرارة 50-45 درجة مئوية لتجفيفها من الماء لمدة عشر دقائق.
- بعد ذلك مُررت الشرائح في 3 حمامات من الكزيلول، حوالي 15 دقيقة لكل حمام،لإزالة الشمع.
- ثم مُررت في الكحول المطلق ثم في كحول بنسبة 95% يليها 70% ثم 50% لمدة 15 دقيقة لكل حمام ليتم إزالة الكزيلول.
- غُسلت الشرائح بالماء ثم وضعت في الهيماتوكسيلين لدقيقتين ثم غُسلت بالماء عدة مرات لإزالة الهيماتوكسيلين الزائد.
- من ثُم وضعت في الإيوزين لمدة تتراوح بين دقيقة ودقيقة ونصف، وغُسلت بالماء لإزالة الإيوزين الزائد.
- لاحقاً وضعت في حمام كحول 70% لمدة دقيقة ثم 95% لمدة دقيقة، ثم في حمامين من الكحول المطلق كل حمام دقيقة واحدة لطرد الماء من النسيج.
- بعد ذلك تم الوضع في الكزيلول مرتين متتاليتين لمدة 3 دقائق في كل مرة لطرد الكحول.
- أخيراً تم ستر الشرائح الزجاجية بالسواتر باستخدام بلسم كندا لتصبح جاهزة للفحص النسيجي .

2-5-2طريقة التلوين النسيجي الكيميائي المناعي:

أجري اختبار فعالية الملون(Positive control) وذلك حسب البروتوكول المناعي الذي أوصت به الشركة المصنعة، وتم اختبار فعالية الملون على خلايا العقدة اللمفية السليمة الشكل20



الشكل 20: يوضح اختبار فعالية الملون المناعي في خلايا العقدة اللمفية تكبير *10

2-5-3 بروتوكول التلوين المتبع:

-حُضرت المقاطع النسيجية بالمبشرة النسيجية بسماكة 4 ميكرون.

-وضِعت المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية المناعية.

- وضِعت الشرائح الزجاجية في فرن التجفيف لمدة 30 دقيقة.

- وضِعت المحضرات في حمامين من الإكزيلول النقي لمدة خمس دقائق لكل حمام ، ثم وضعت في حمامات متتالية من الكحول (كحول مطلق ثم كحول 75% ثم كحول 50%) مدة خمس دقائق لكل حمام ، وبعدها غسلت بالماء الجاري.

– غُمست الشرائح الزجاجية ضمن سلات تحتوي على المحلول المُظهر للمُستضد ، ووضعت ضمن المايكروويف مدة 30 ثانية بدرجة الحرارة 125 درجة مئوية ، ثم مدة 10 ثوان بدرجة الحرارة 90 درجة مئوية.

– تُركت الشرائح الزجاجية لتبرد بدرجة حرارة الغرفة من 20–10 دقيقة.

–غُسلت الشرائح بالماء الجاري خمس دقائق.

–ثم غُمرت الشرائح ضمن المحلول الدارئ PBS مدة 3 دقائق إذ حُضر وفق تعليمات الشركة المصنعة بإضافة قرص منه لكل 100 مل من الماء المقطر.

–أُحيطت العينة النسيجية بقلم التحديد (Dako pen) لمنع تسرب المواد المُطبقة على النسيج.

–بعد ذلك غُمر النسيج في Peroxidase/AP Blocker لمدة خمس دقائق.

–غُسلت السلايدات ثلاث مرات في المحلول الدارئ PBS مدة ثلاث دقائق لكل مرة.

–غُطي النسيج بالكاشف المناعي باستخدام المِمص، إذ طُبقَ الضد الخاص للغرانزيم ب على الشرائح مدة 45 دقيقة.

–غُسلت الشرائح بالمحلول الدارئ PBS ثلاث مرات.

–غُطي النسيج ب Poly Detector HRP Lable مدة 45 دقيقة.

–غُسلت بعدها الشرائح ثلاث مرات بالمحلول الدارئ.

–حُضر DAB substrate chromogen solution إذ أضيفت قطرة واحدة من Poly Detector DAB Chromogen لكل 1مل من Poly Detector DAB Buffer مع المزج الجيد ضمن عبوة مناسبة.

– غُطي النسيج ب DAB substrate chromogen solution لمدة 10 دقائق.

– ثم غُسلت الشرائح بالماء المقطر خمس مرات .

–لونت الشرائح بالهيماتوكسيلين حوالي 30 ثانية ثم غسلت بالماء.

-سُحِبَ الماء من النسج بحمامات الكحول، ثم أُتبع بحمامين من الإكزيلول (5-3 دقائق لكل واحد).

- وأخيراً سُتِرت السلايدات الزجاجية بالسواتر وبلسم كندا وبذلك أصبحت جاهزة للدراسة المناعية.

2-5-4 تقييم العينة الشاهدة:

تم فحص العينة الشاهدة بعد تلوينها بالهيماتوكسيلين والإيوزين تحت المجهر الضوئي لتشخيصها والتأكد من سلامتها وخلوها من أي علامات التهابية أو سوء تصنع ومن ثُم قمنا بالتلوين النسيجي الكيميائي المناعي لها.

2-5-5 معايير التلوين المناعي المعتمدة أثناء تقييم الخزعات النسيجية:

في التلوين المناعي النسيجي (IHC) باستخدام الجسم المضاد للغرانزيم ب ، يكون الهدف هو الكشف عن وجود هذا البروتين داخل السيتوبلازما في الخلايا التائية السامة للخلايا(CD8) والخلايا القاتلة الطبيعية (NK Cells)

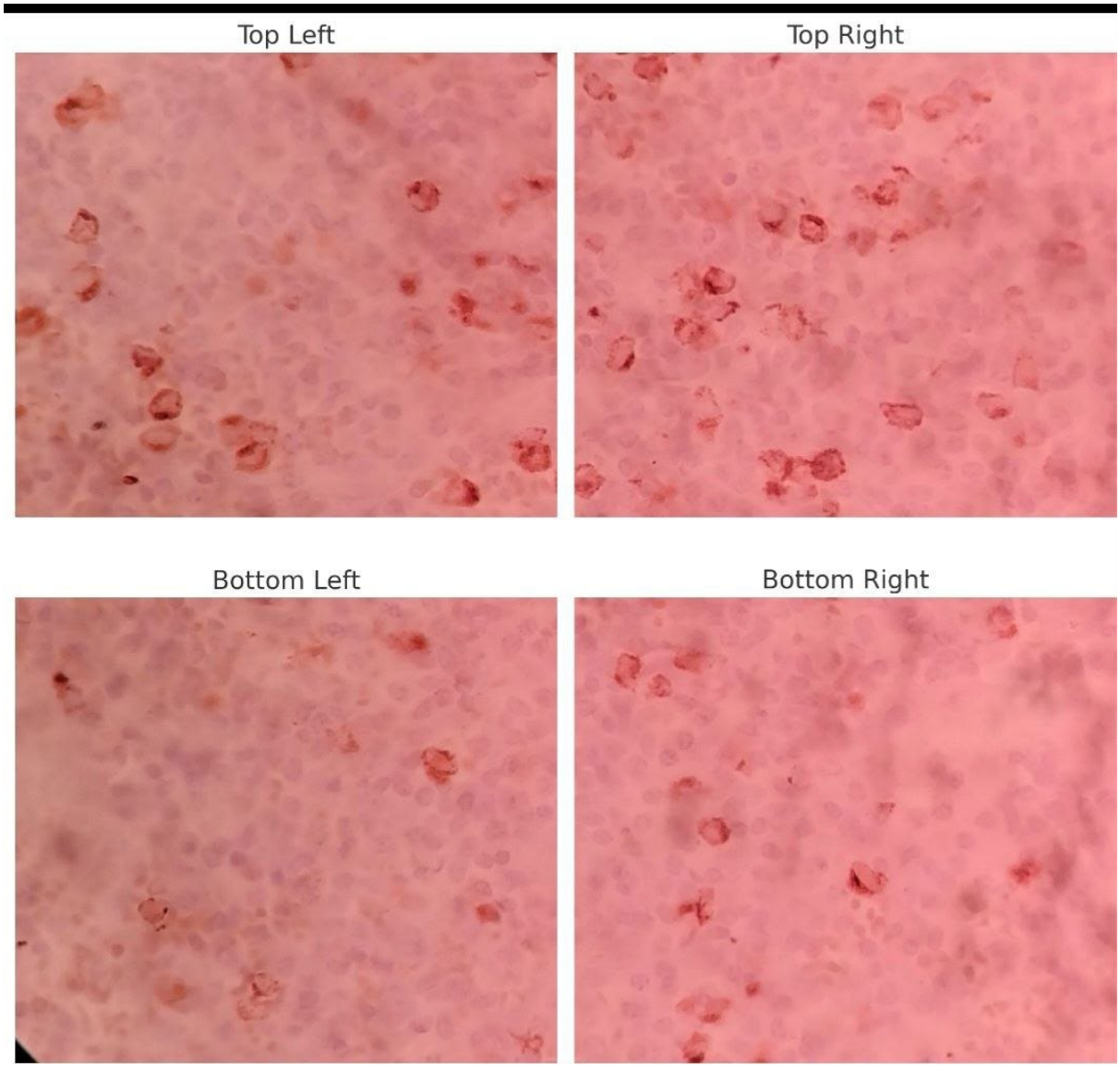
موضع التلوين سيتوبلازمي (Cytoplasmic Staining)

اللون الناتج عند التلوين الإيجابي: بني داكن أو متوسط (نتيجة استخدام DAB ككروموجين) في حال كانت الخلية سلبية أي لا تحتوي الغرانزيم ب فتظهر السيتوبلازما عديمة اللون أو بلون الخلفية فقط.

بحسب الشركة التلوين لايسبب تغيراً مورفولوجياً في الخلية (لاتتغير النواة أو الحجم أو الشكل الطبيعي).

عدد الخلايا الإيجابية يمكن أن يستخدم لتقدير النشاط المناعي داخل النسيج.

تمت دراسة المحضرات الملونة مناعياً باستخدام المجهر الضوئي حيث تم تقييم الساحات الملونة بتكبير (100x) وإيجاد أكثر 4 ساحات نسيجية تظهر تعبيرية عالية للغرانزيم ومن ثُم عد الخلايا الإيجابية للغرانزيم ب في كل من هذه الساحات نسبة إلى العدد الكلي للخلايا باستخدام التكبير (400x) وحساب المتوسط الحسابي (عدد الخلايا الإيجابية لكل مم^2) لهذه الساحات الأربعة وبالتالي الحصول على نسبة مئوية للتعبيرية لكل عينة من العينات. (Kubota et al., 2017) يوضح ذلك الشكل 21



الشكل 21 : يوضح تقسيم الساحة إلى أربع أجزاء وعد الخلايا الموجودة في كل جزء نسبة إلى العدد الكلي ومن ثم حساب المتوسط الحسابي

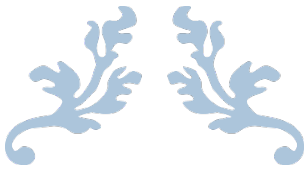
2-5-6 الاختبارات والمقاييس الإحصائية المستخدمة في معالجة البيانات :

تمت معالجة البيانات باستخدام برنامج SPSS 20.00 حيث تم عرض البيانات الوصفية لمشعر الدراسة متضمنة القيمة الأعلى و الأدنى و المتوسط الحسابي.

عند المقارنة بين أكثر من مجموعتين: تم اختبار توزع البيانات في كل مجموعة حيث إذا أخذت البيانات التوزع الطبيعي، نستخدم الاختبارات المعلمية والمتمثلة باختبار One-way Anova، وبالمقابل إذا أخذت البيانات التوزع اللا طبيعي، نستخدم اختبار Kruskal-walls. تم عرض مقارنات بشكل أزواج في حال وجود فروق ذات دلالة جوهرية عند استخدام أحد الاختبارين السابقين.

عند المقارنة بين مجموعتين: تم اختبار توزع البيانات في كل مجموعة حيث إذا أخذت البيانات التوزع الطبيعي، نستخدم الاختبارات المعلمية والمتمثلة باختبار t، وبالمقابل إذا أخذت البيانات التوزع اللا طبيعي، نستخدم اختبار Mann-Whitney.

كما تم اعتماد 0.05 كمستوى دلالة للفروق الجوهرية ضمن الدراسة ، تم دراسة نوع الارتباط الموجود بين مشعري الدراسة باستخدم معامل بيرسون عند التوزع الطبيعي، في حين نستخدم سبيرمان في الحال التوزع اللاطبيعي للبيانات.



النتائج والدراسة الإحصائية التحليلية

Results and Statistical Analysis

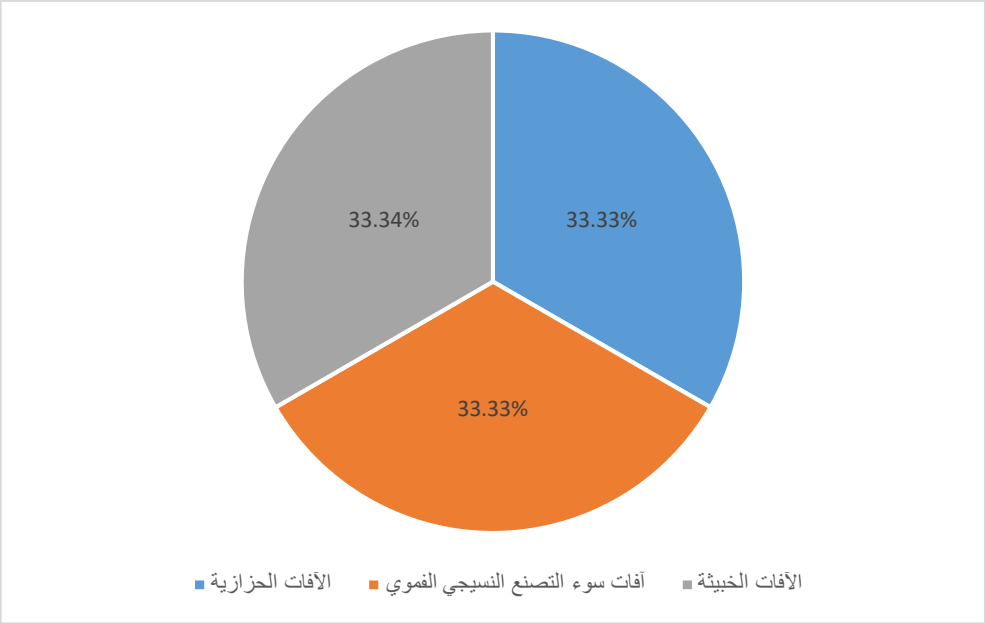
3-1 وصف العينة:

تتضمن الدراسة 36 قالباً شمعياً محفوظاً أظهرت الساحة النسيجية تشخيصاً للحزاز المسطح الفموي في 12 قالباً منها، في حين وجد أن 12 أظهرت صفات ورمية (سرطان شائك الخلايا الفموي)، أظهرت القوالب 12 المتبقية صفات نسيجية لآفات سوء التصنع النسيجي الفموي ، يظهر الجدول 3 التوزع المئوي و التكراري لتوزع القوالب الشمعية بحسب نتائج الدراسة النسيجية.

الجدول3: التوزع المئوي و التكراري للخزعات بحسب نتائج الدراسة النسيجية.

التوزع التكراري				التوزع المئوي			
الآفات الحزازية	آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	السرطان شائك الخلايا الفموي	المجموع	الآفات الحزازية	آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	السرطان شائك الخلايا الفموي	المجموع
12	12	12	36	33,3%	33,3%	33,4%	100%

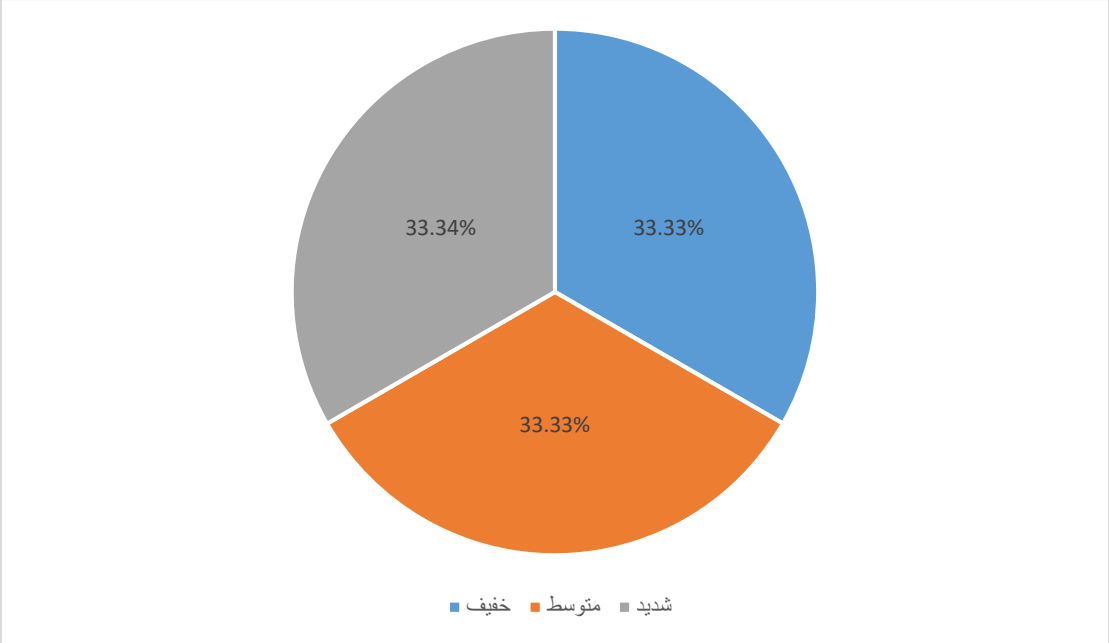
نجد من الجدول 3 ان الدراسة تضمنت 33,3% الآفات الحزازية، 33,4 % السرطان شائك الخلايا و33,3 % آفات سوء التصنع النسيجي الفموي .



مخطط 1: مخطط فطيرة يوضح توزع عينات الدراسة بحسب التشخيص النسيجي.

الجدول4: التوزع المئوي و التكراري لآفات سوء التصنع النسيجي الفموي حسب الدرجة.							
التوزع التكراري				التوزع المئوي			
خفيف	متوسط	شديد	المجموع	خفيف	متوسط	شديد	المجموع
4	4	4	12	33.3%	33.3%	33.4%	100%

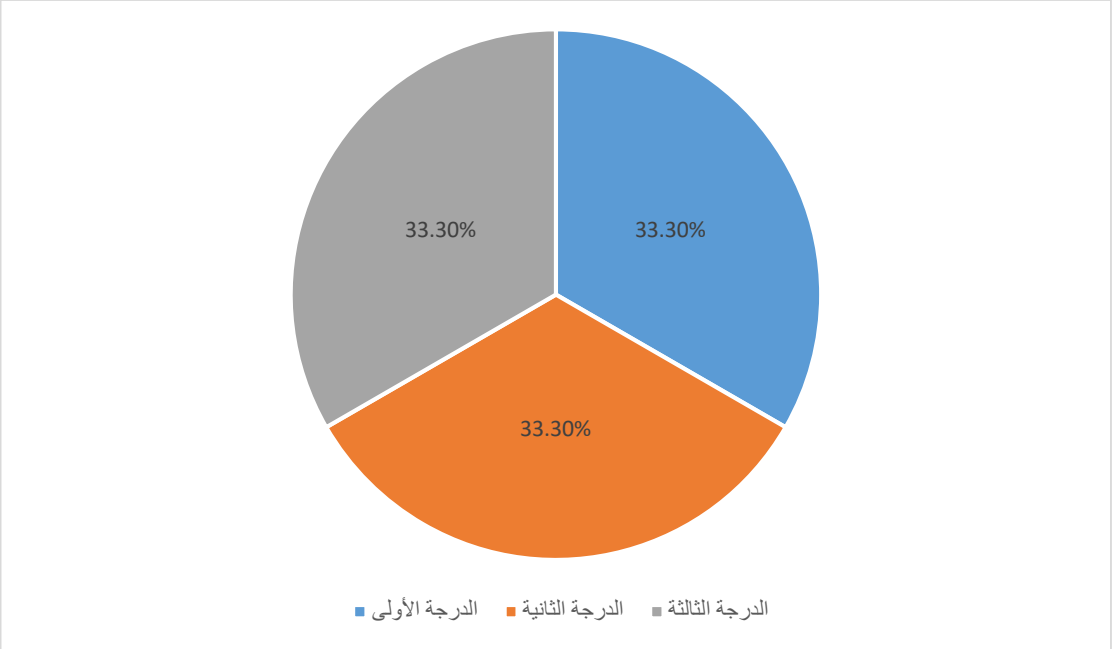
نجد من الجدول 4 أن الدراسة تضمنت 4 حالات سوء تصنع خفيف و 4 حالات سوء تصنع متوسط و 4 حالات سوء تصنع شديد.



مخطط 2: مخطط فطيرة يوضح توزع عينات مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي بحسب الدرجة.

الجدول5: التوزع المئوي و التكراري للسرطان شائك الخلايا الفموي بحسب درجة الإصابة الورمية.							
التوزع التكراري				التوزع المئوي			
الدرجة الاولى	الدرجة الثانية	الدرجة الثالثة	المجموع	الدرجة الاولى	الدرجة الثانية	الدرجة الثالثة	المجموع
4	4	4	12	33.3%	33.3%	33.3%	100%

نجد من الجدول5 أن الدراسة تضمنت درجة أولى من السرطان شائك الخلايا الفموي في 33,3% من عينات مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي وبالمثل 33,3% من الدرجة الثانية، و 33,3% من الدرجة الثالثة.



مخطط 3: مخطط فطيرة يوضح توزع عينات مجموعة سرطان شائك الخلايا بحسب درجة الخباثة.

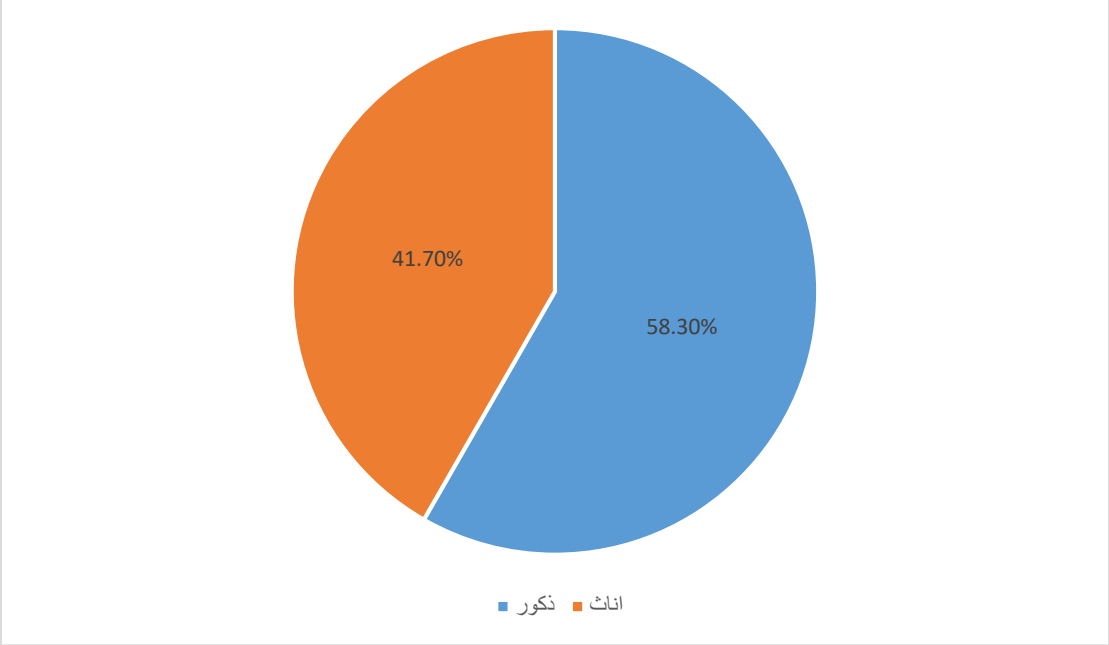
3-1-1 توزع المرضى بحسب الجنس:

توزع المرضى بحسب الجنس في الدراسة الى 15 إناث و 21 ذكور يظهر الجدول 6 التوزع التكراري و المئوي للعينات بحسب الجنس في مجموعات الدراسة.

الجدول6: التوزع التكراري و المئوي لجنس المرضى المشاركين في الدراسة.

المجموعة	التوزع التكراري			التوزع المئوي		
	ذكور	إناث	المجموع	ذكور	إناث	المجموع
الآفات الحزازية	5	7	12	41.7%	58.3%	100%
آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	9	3	12	75%	25%	100%
السرطان شائك الخلايا الفموي	7	5	12	58.3%	41.7%	100%
المجموع	21	15	36	58.3%	41,7%	100%

نجد من الجدول 6 أن مجموعة الآفات الحزازية احتوت 58.3% إناثاً و 41.7% ذكوراً، في حين احتوت مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي 75% ذكوراً و25% إناثاً، و احتوت مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي 53.6% ذكوراً و 46,4% إناثا.



مخطط 4: مخطط فطيرة يوضح توزع عينات الدراسة بحسب الجنس.

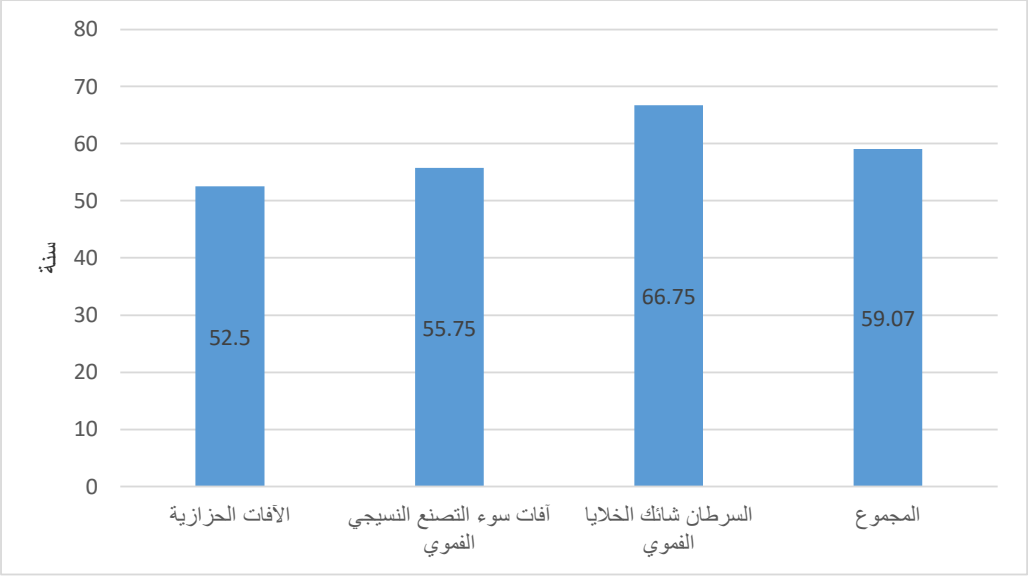
3-1-2البيانات الوصفية لأعمار المرضى:

تراوحت أعمار المرضى المشاركين في الدراسة بين 46 سنة الى 85 سنة وبمتوسط حسابي 59.07 سنة، يظهر الجدول 7 البيانات الوصفية لأعمار المرضى المشاركين في الدراسة.

الجدول7: البيانات الوصفية لأعمار المرضى المشاركين في الدراسة.

المجموعة	العدد	القيمة الادنى	القيمة الاعلى	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
الآفات الحزازية	12	48	59	52.50	3.371
آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	12	51	62	55.75	4.693
السرطان شائك الخلايا	12	46	85	66.75	8.540
المجموع	36	46	85	59.07	9.185

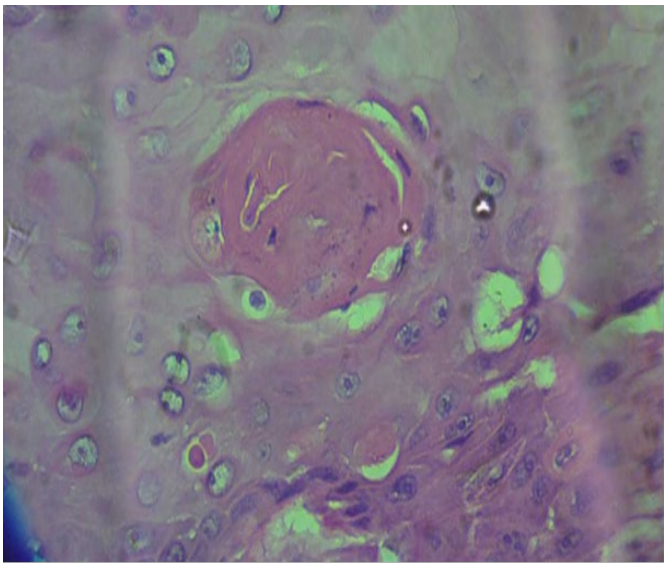
نجد من الجدول 7 أن أعمار المرضى تراوحت بين 48 سنة الى 59 سنة وبمتوسط حسابي 52.5 سنة في مجموعة الآفات الحزازية ، كما تراوحت أعمار المرضى بين 51 سنة الى 62 سنة وبمتوسط حسابي 55.75 سنة في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي، و تراوحت أعمار المرضى بين 46 سنة الى 85 سنة وبمتوسط حسابي 66.75 سنة في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي.



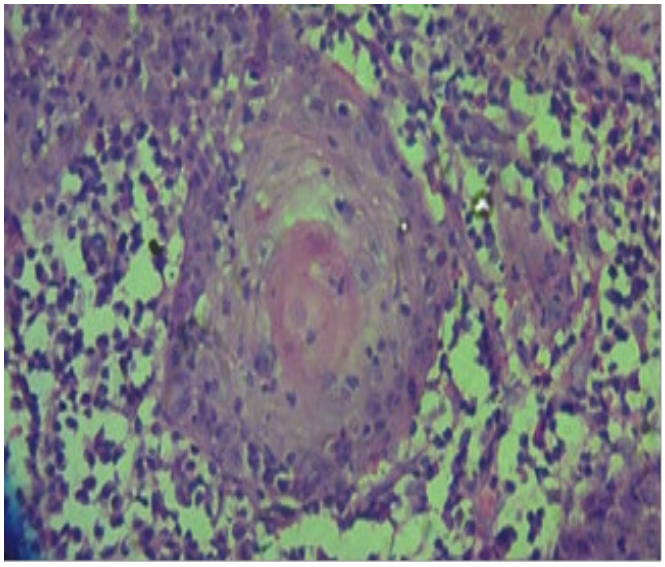
مخطط 5: مخطط أعمدة يوضح المتوسط الحسابي لأعمار المشاركين في الدراسة.

3-2 المشاهدات الوصفية:

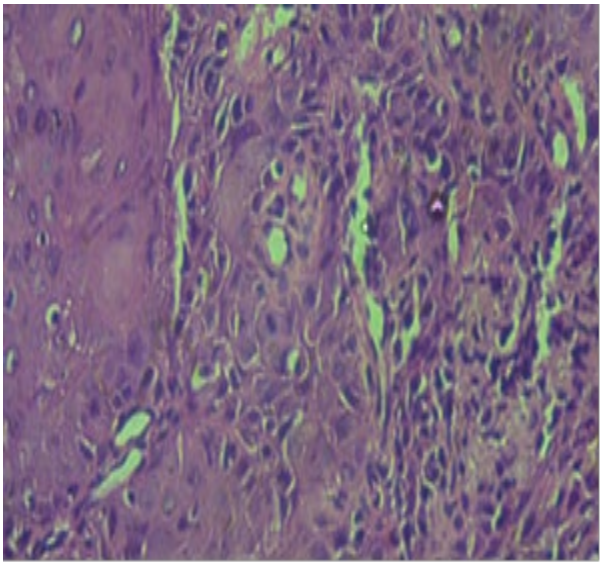
أولاً: توصيف تلون الخلايا بالتلوين التقليدي هيماتوكسيلين/ أيوزين H/E في الخزعات النسيجية الفموية لمجموعات الدراسة:



الشكل22: تلوين تقليدي لسرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى جيد التمايز بتكبير x40 يوضح التمايز الجيد للخلايا مع وجود كرات التقرن

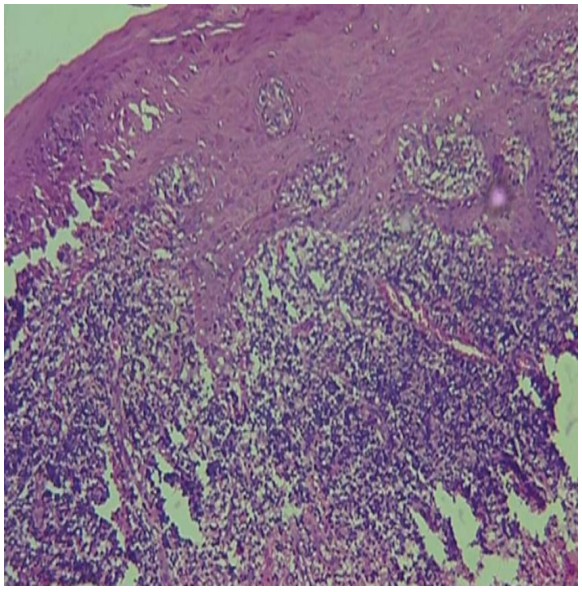


الشكل23:تلوين تقليدي لسرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثانية متوسط التمايز تكبير x40 يظهر أعشاش من الخلايا الشاذة تنتشر في النسيج الضام مع وجود كرات تقرن واضحة



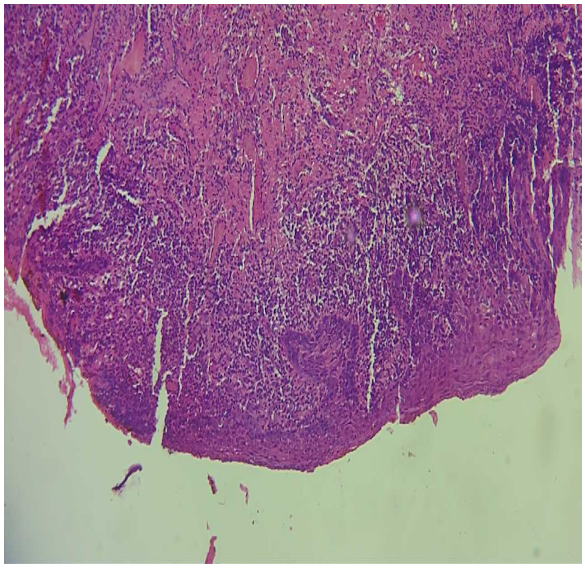
الشكل24:تلوين تقليدي لسرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة ضعيف التمايز x40

نلاحظ فقدان شبه تام للتمايز الخلوي لانمطية خلوية شديدة ونشاط انقسامي

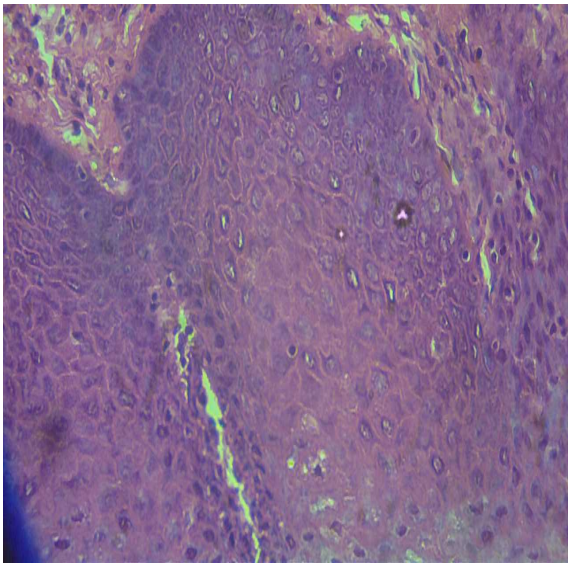


الشكل25: تلوين تقليدي للحزاز المسطح الفموي بتكبير x40،حيث نلاحظ

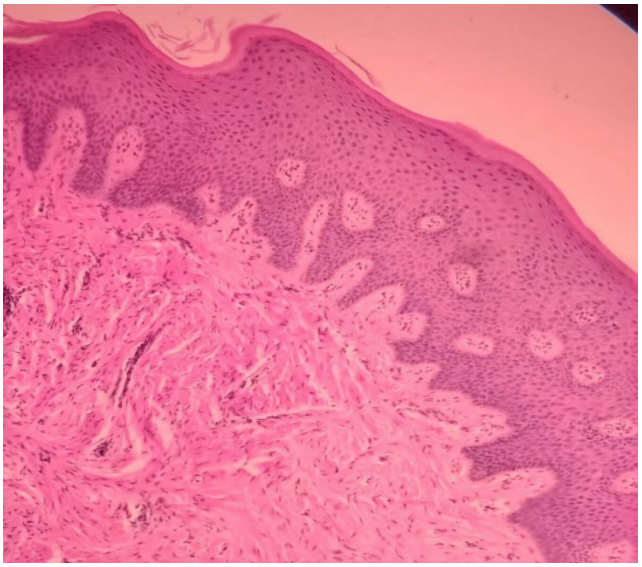
تحلل الخلايا القاعدية، شريط من الخلايا اللمفاوية تحت البشرة



الشكل26: تلوين تقليدي للحزاز المسطح الفموي بتكبيرx10 تحلل
الخلايا القاعدية وشريط من الخلايا اللمفاوية

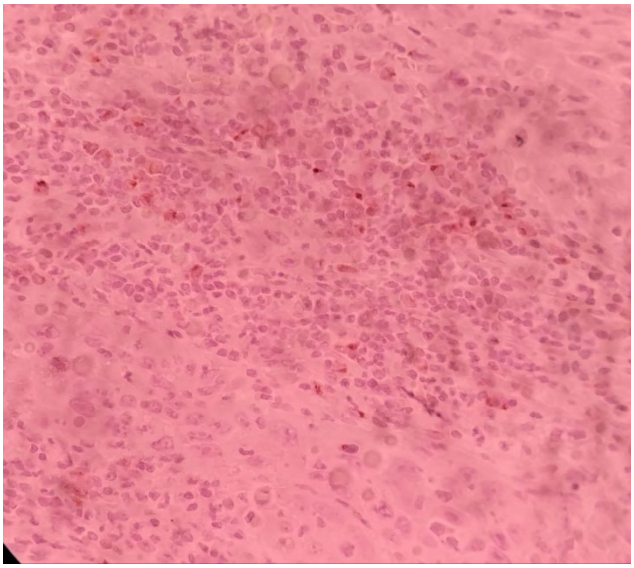


الشكل27: تلوين تقليدي لسوء التصنع النسيجي الفموي الشديد بتكبير x40 نلاحظ
انتشار اللانمطية الخلوية عبر معظم سماكة الظهارة، لانمطية نووية، انقسامات غير طبيعية

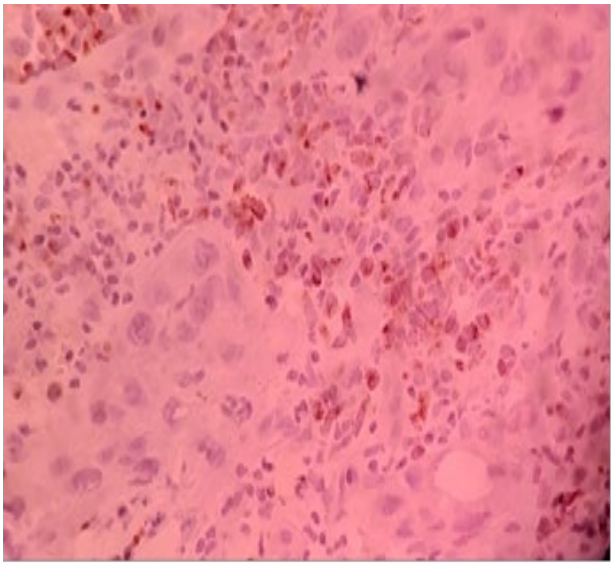


الشكل 28 : تلوين تقليدي للبشرة اللثوية الطبيعية حيث تظهر خالية من الالتهاب (العينة الشاهدة)

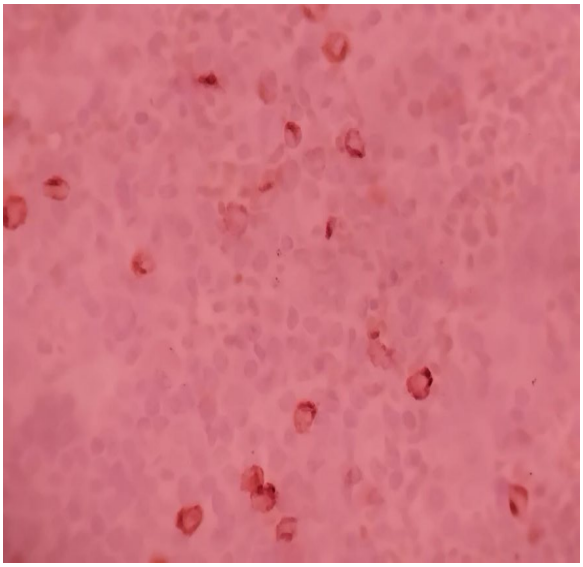
ثانياً: توصيف تلون الخلايا بالتلوين المناعي الغرانزيم ب في الخزعات النسيجية الفموية لمجموعات الدراسة:



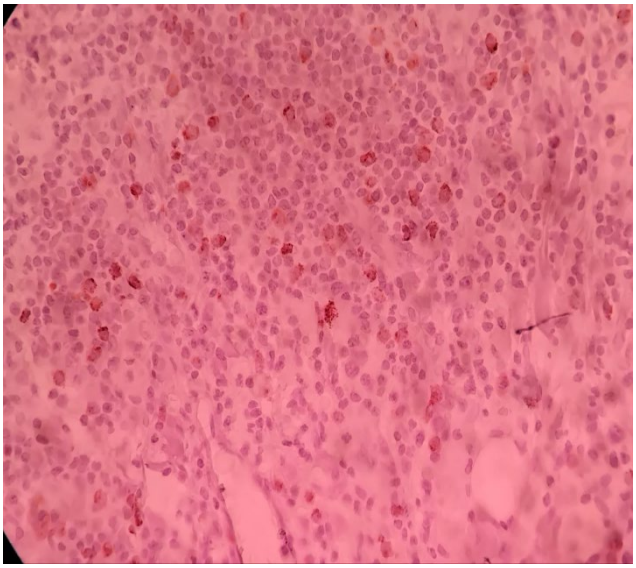
الشكل29: تعبيرية سيتوبلازمية
للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى بتكبير x10



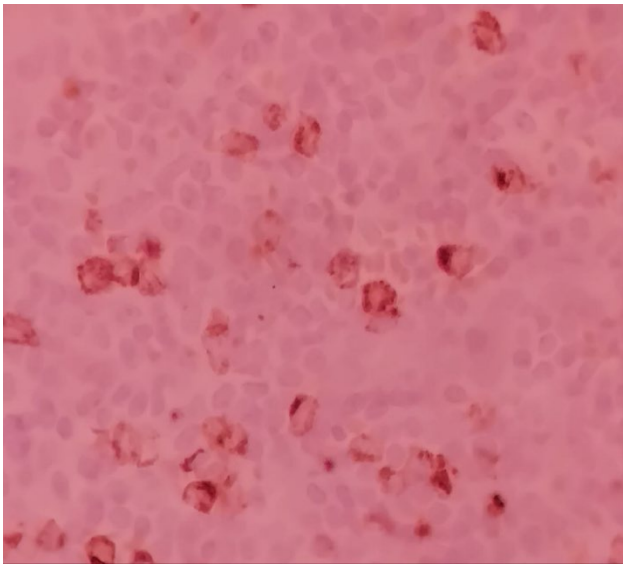
الشكل30: تعبيرية سيتوبلازمية
للغرانزيم ب في عينة من عينات الدرجة الأولى للسرطان شائك الخلايا الفموي بتكبير x10



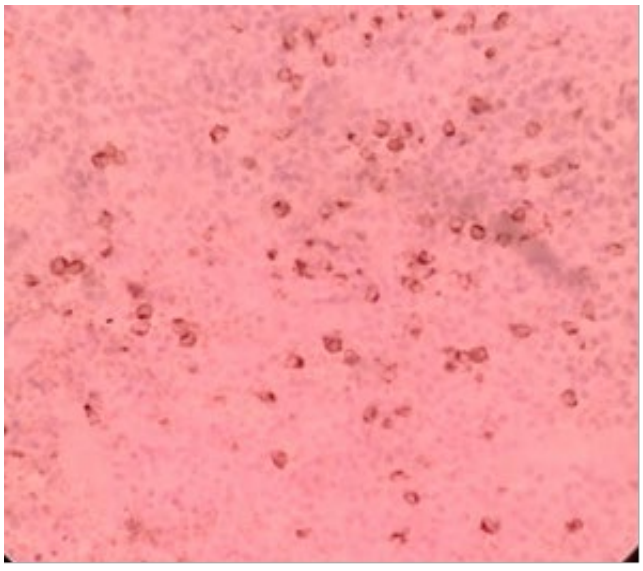
الشكل31: تعبيرية سيتوبلازمية
للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى بتكبير x40



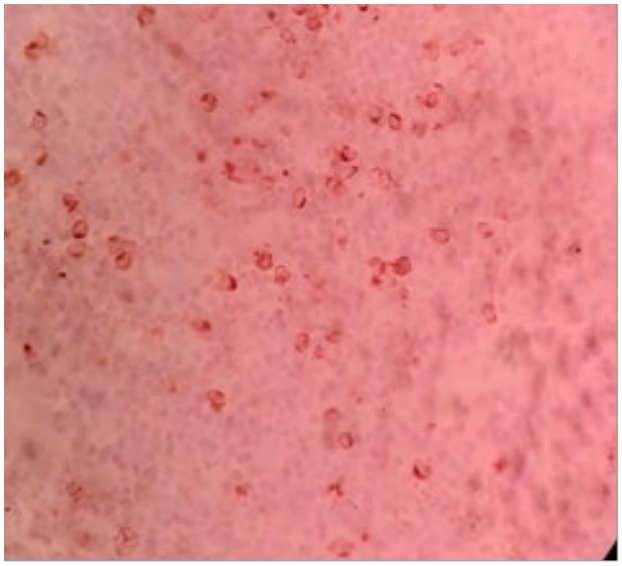
الشكل32: تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات السرطان
شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثانية بتكبير X10



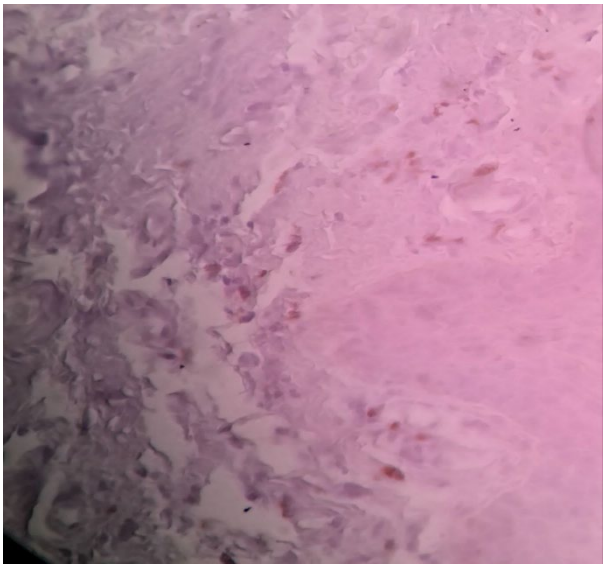
الشكل33: تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثانية بتكبير x40



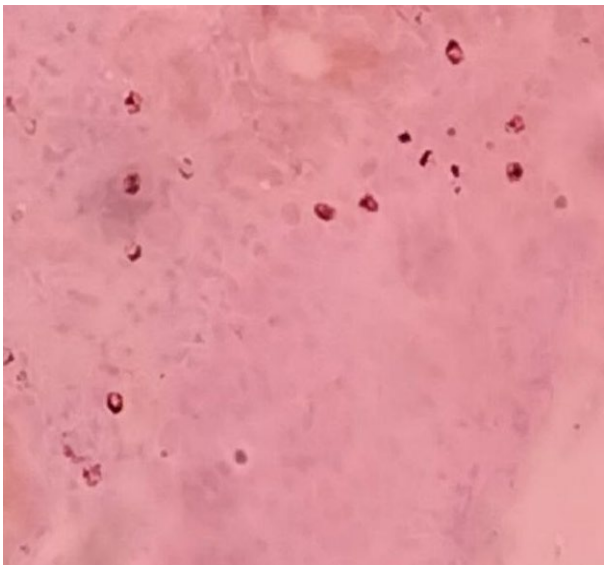
الشكل 34: تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب
في عينة من عينات السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة بتكبير x10



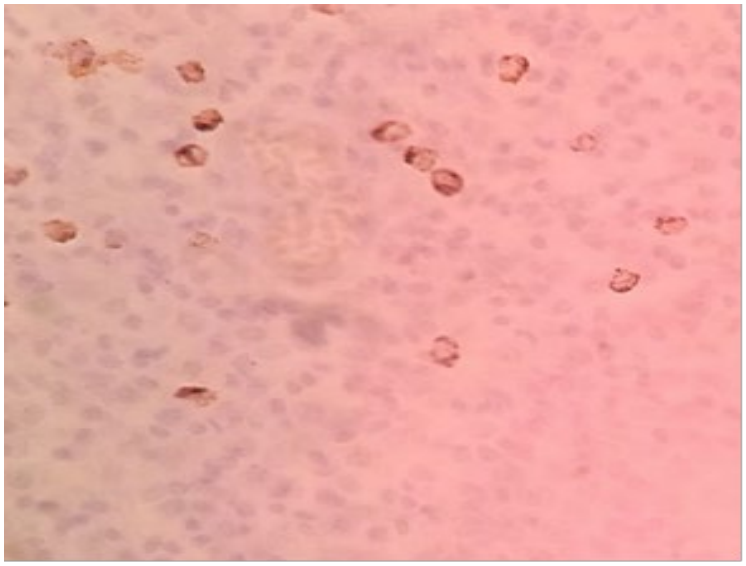
الشكل35: تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب
في عينة من عينات السرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الثالثة بتكبير x40



الشكل38:تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب
في عينة حزاز مسطح فموي بتكبير x40



الشكل39: تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات سوء التصنع النسيجي الفموي الشديد بتكبير x10

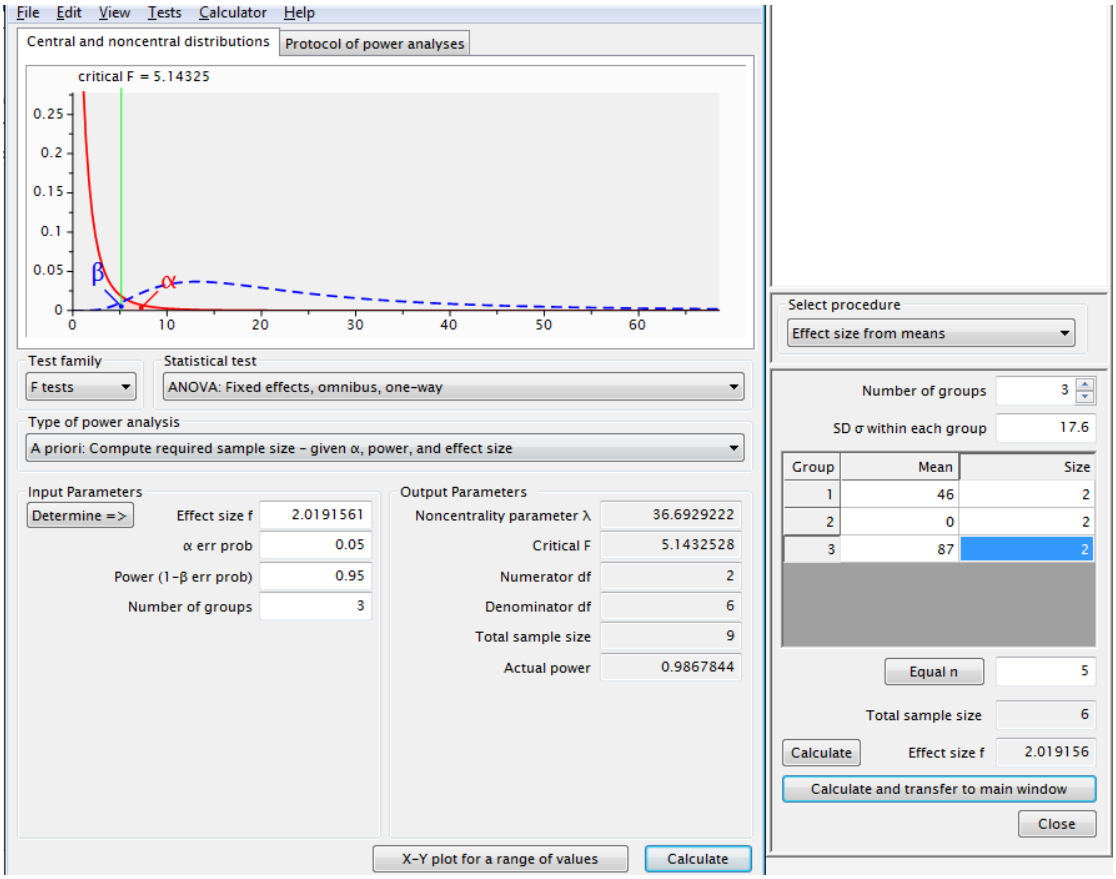


الشكل40: تعبيرية سيتوبلازمية للغرانزيم ب في عينة من عينات سوء التصنع النسيجي الفموي الشديد بتكبير x40

3-3 الاختبارات الإحصائية للبيانات:

3-3-1 تحديد حجم العينة:

تم حساب حجم العينة باستخدام برنامج G.Power 3.1 تم اختيار الاختبارات F مع اختيار ANOVA one-way كاختبار معياري للدراسة و استنتاج حجم الأثر عبر دراسة توجيهية تمت على 6 عينات، عينتين في كل مجموعة من مجموعات الدراسة وقد قدر حجم الأثر المعتمد على الدراسة التوجيهية 2.02 مع اعتماد قوة دراسة 0.95 و نسبة خطأ من النمط الفا 0.05 واختيار3 مجموعات.



الشكل 41: يوضح الحد الأدنى لحجم عينة البحث باستخدام برنامج G-power

حيث وجدنا أن 9عينات كحد أدنى لكل مجموعة مقبول بالاعتماد على حجم الأثر في الدراسة، تم رفع عدد العينات إلى 12 لكل مجموعة.

3-3-2 اختبار التوزيع الطبيعي لبيانات مجموعات الدراسة:

3-3-2-1الإحصاء التحليلي:

يأخذ كم تعبير الغرانزيم ب قيماً رقميةً مستمرةً مما يجعله مشعرا رقمياً، ومنه عند تحديد نوعية الفروق بين مجموعات الدراسة نحدد نوع الاختبارات التحليلية المناسبة بحسب نوع توزع بيانات هذا المشعر، أخذت بيانات كم تعبير الغرانزيم ب توزعاً طبيعياً في جميع مجموعات الدراسة ومنه نستخدم الاختبارات المعلمية، يظهر الجدول 8 نتائج اختبار نمط التوزع لتحديد نمط توزع عينات الدراسة وذلك باختلاف الآفة النسيجية المشخصة.

الجدول 8: نتائج اختبار نمط توزع البيانات One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test لتحديد نمط توزع عينات الدراسة وذلك باختلاف الآفة النسيجية المشخصة.

المجموعة	التعداد		كم تعبير الغرانزيم ب
الآفات الحزازية	العدد		12
	البارامترات الطبيعية	المتوسط	34.33
		الانحراف المعياري	3.055
	إحصائية الاختبار		0.439
	القيمة الاحتمالية للجوهرية		0.990
آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	العدد		12
	البارامترات الطبيعية	المتوسط	11.83
		الانحراف المعياري	17.570
	إحصائية الاختبار		1.401
	القيمة الاحتمالية للجوهرية		0.054
السرطان شائك الخلايا الفموي	العدد		12
	البارامترات الطبيعية	المتوسط	67.17
		الانحراف المعياري	29.987
	إحصائية الاختبار		0.723
	القيمة الاحتمالية للجوهرية		0.673

نجد من الجدول 8 أخذ القيمة الاحتمالية لاختبار التوزع قيمة أكبر من 0.05 وبذلك نفرض التوزع الطبيعي للبيانات.

3-3-3 دراسة تعبيرية الغرانزيم ب في بعض الآفات الفموية محتملة الخباثة والسرطان شائك الخلايا الفموي:

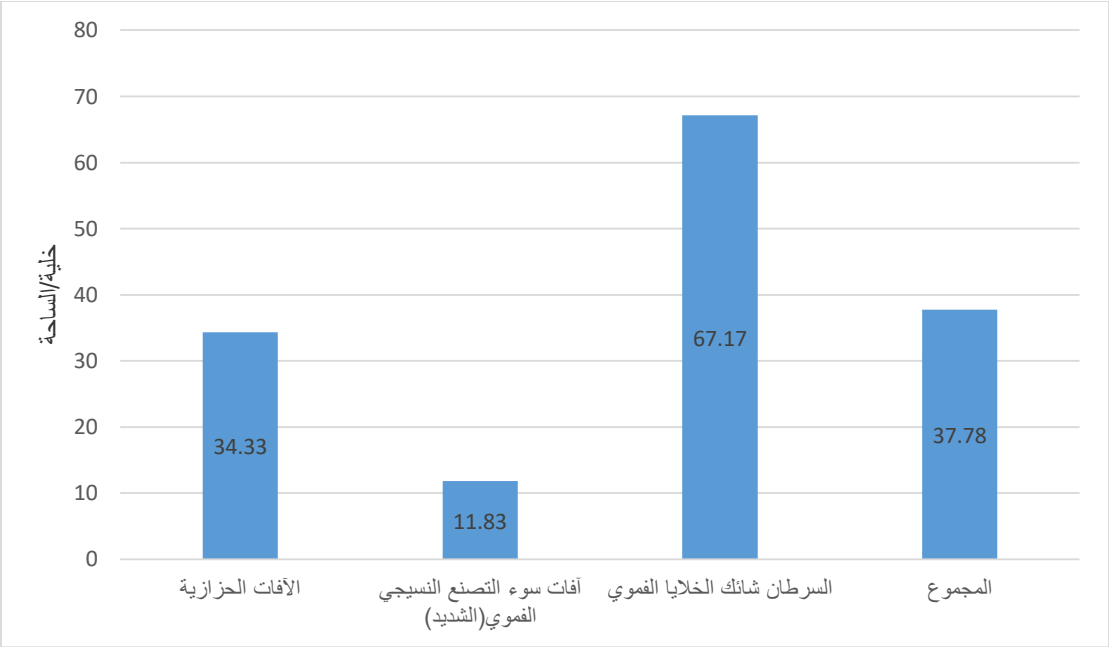
3-3-3-1الإحصاء الوصفي:

تراوح كم التعبير في الدراسة بين 0خلية/ الساحة الى 112خلية/ الساحة وبمتوسط حسابي 48.57خلية/ الساحة ، يظهر الجدول 9 البيانات الوصفية لكم تعبير الغرانزيم ب في مجموعات الدراسة المتوزعة بحسب نمط الإصابة.

الجدول9: البيانات الوصفية لكم تعبير الغرانزيم ب في مجموعات الدراسة.

المجموعة	العدد	القيمة الأدنى	القيمة الأعلى	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
الآفات الحزازية	12	30	40	34.33	3.055
آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	12	0	40	11.83	17.570
السرطان شائك الخلايا الفموي	12	32	112	67.17	29.987
المجموع	36	00	112	37.78	30.225

نجد من الجدول9 أن كم تعبير الغرانزيم ب تراوح بين 30 خلية/ الساحة الى 40 خلية/ الساحة وبمتوسط حسابي 34.33 خلية/ الساحة في مجموعة الآفات الحزازية ، كما تراوح كم تعبير الغرانزيم ب بين 0 خلية/ الساحة الى 40 خلية/ الساحة وبمتوسط حسابي 11.83 خلية/ الساحة في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي (الصفر لعدم وجود تعبيرية للغرانزيم ب في عينات سوء التصنع النسيجي الخفيف والمتوسط)، وتراوح كم تعبير الغرانزيم ب بين 32 خلية/ الساحة الى 122 خلية/ الساحة وبمتوسط حسابي 67.17 خلية/ الساحة في المجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي.



مخطط 6: مخطط أعمدة يوضح المتوسط الحسابي لكم تعبير الغرانزيم ب في الدراسة.

3-3-3-2 نوعية الفروق بين مجموعات الدراسة المتوزعة بحسب التشخيص النسيجي:

عند تحديد نوعية الفروق في كم تعبير الغرانزيم ب بين مجموعات الدراسة نستخدم اختبار One-Way-ANOVA بهدف تحديد ما إذا كان اختلاف متوسط كم تعبير الغرانزيم ب بين مجموعات الدراسة جوهرياً أو ليس جوهرياً؟ يعرض الجدول 10 نتائج اختبار One-Way-ANOVA لاختبار ما سبق.

الجدول 10:نتائج اختبار One-way ANOVA لدراسة فروق متوسطات كم تعبير الغرانزيم ب بين مجموعات الدراسة.

	مجموع المربعات	درجة الحرية	متوسط المربعات	F	القيمة الاحتمالية
بين المجموعات	18584.222	2	9292.111	22.901	0.001>
داخل المجموعات	13390.000	33	405.758		
المجموع	31974.222	35			

نجد من الجدول 10 وجود فروق جوهرية في متوسط كم تعبير الغرانزيم ب بين مجموعتين على الأقل، ومنه نتبع في الاختبارات البعدية لتحديد الجوهرية بشكل أكثر دقة حيث قمنا بإجراء مقارنات ثنائية مع استخدام اختبار Bonferroni في الجدول11.

الجدول 11: مقارنات Post-hoc باستخدام اختبار Bonferroni بين كل مجموعتين على حدا لإيجاد الفروق الجوهرية بين متوسطات كم تعبير الغرانزيم ب في مجموعات الدراسة.

المجموعة I	المجموعة J	متوسط الاختلاف (I–J)	الخطأ المعياري	القيمة الاحتمالية	مستوى ثقة 95%	
					الحد الأدنى	الحد الأعلى
الآفات الحزازية	آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	22.500*	8.224	**0.030**	1.76	43.24
	السرطان شائك الخلايا الفموي	−32.833*	8.224	**0.001**	−53.57	−12.09
آفات سوء التصنع النسيجي الفموي	السرطان شائك الخلايا الفموي	−55.333*	8.224	**0.001>**	−76.07	−34.59

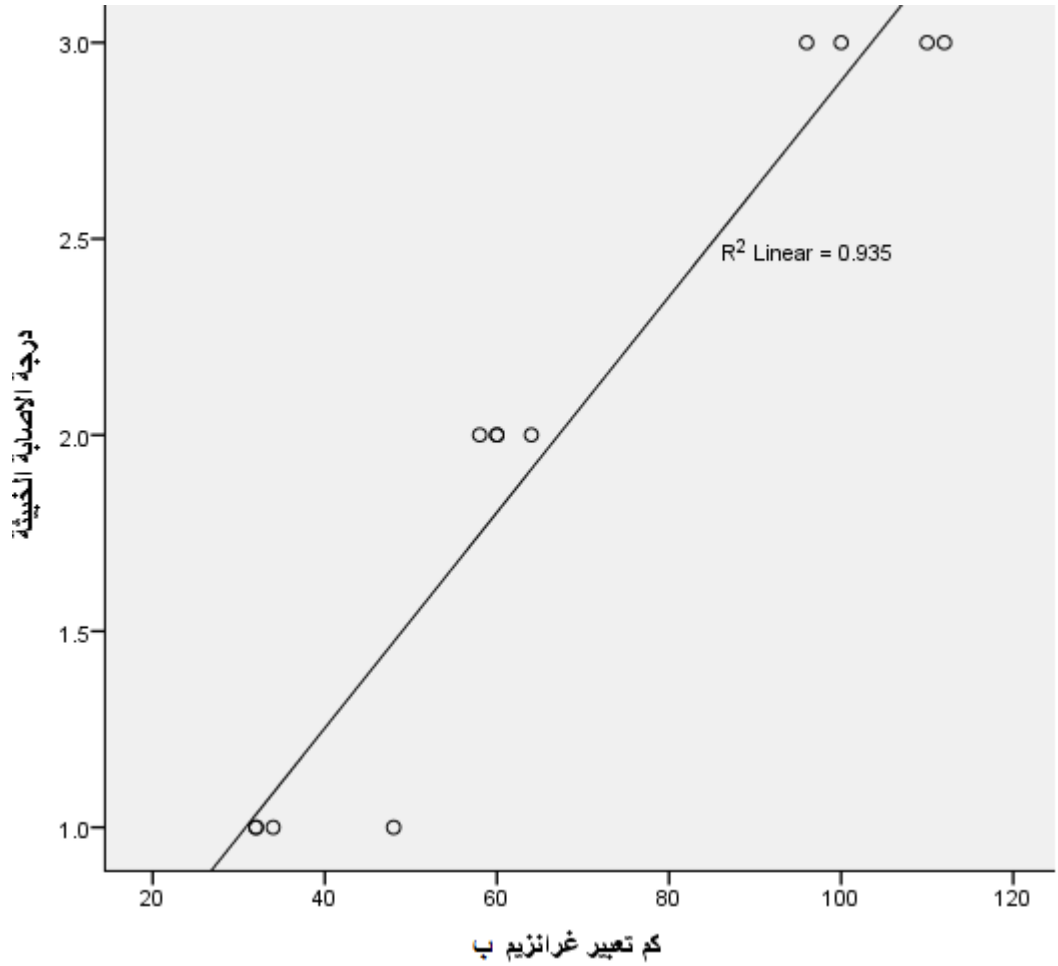
نجد من الجدول 11 وجود فروق جوهرية بين متوسط تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة الآفات الحزازية و متوسط تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي، حيث نجد أن تعبيرية الغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي أعلى جوهريا عند مقارنته مع تعبيرية الغرانزيم ب في الآفات الحزازية، ونجد وجود فروق جوهرية بين متوسط تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي(الشديد منها) و متوسط تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي، حيث نجد أن تعبيرية الغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي أعلى جوهريا عند مقارنته مع تعبيرية الغرانزيم ب في آفات سوء التصنع النسيجي الفموي (الشديد)، ونجد وجود فروق جوهرية بين متوسط تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي (الشديد) و متوسط تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة الآفات الحزازية، حيث نجد أن تعبيرية الغرانزيم ب في الآفات الحزازية أعلى جوهريا عند مقارنته مع تعبيرية الغرانزيم ب في آفات سوء التصنع النسيجي الفموي (الشديد).

3-3-3-3 الارتباط بين تعبيرية الغرانزيم ب و درجة السرطان شائك الخلايا الفموي:

تم اختبار وجود الارتباط بين قيم تعبيرية الغرانزيم ب و درجة السرطان شائك الخلايا في مجموعة السرطان شائك الخلايا باستخدام معامل ارتباط سبيرمان وكذلك بالنسبة لآفات سوء التصنع النسيجي الفموي، في حين تعذر اختبار الارتباط في مجموعة الحزاز لعدم وجود درجات للإصابة، عرض الجدول 12 نتائج ارتباط المعامل.

الجدول 12: معامل ارتباط سبيرمان بين تعبير الغرانزيم ب و درجة السرطان شائك الخلايا الفموي.

المتغير الثاني	نوع الآفة	المتغير الاول درجة السرطان شائك الخلايا			دلالة القيمة
		قيمة معامل الارتباط r	عدد العينات	القيمة الاحتمالية	
تعبير غرانزيم ب	السرطان شائك الخلايا	0.949	12	**0.001>**	يوجد ارتباط جوهري



مخطط7: مخطط نقطي يوضح درجات السرطان شائك الخلايا على المحور y و قيم كم تعبير غرانزيم ب على المحور x في مجموعة سرطان شائك الخلايا. نلاحظ تجمع معظم النقاط المرسومة بالقرب من الخط المرسوم.

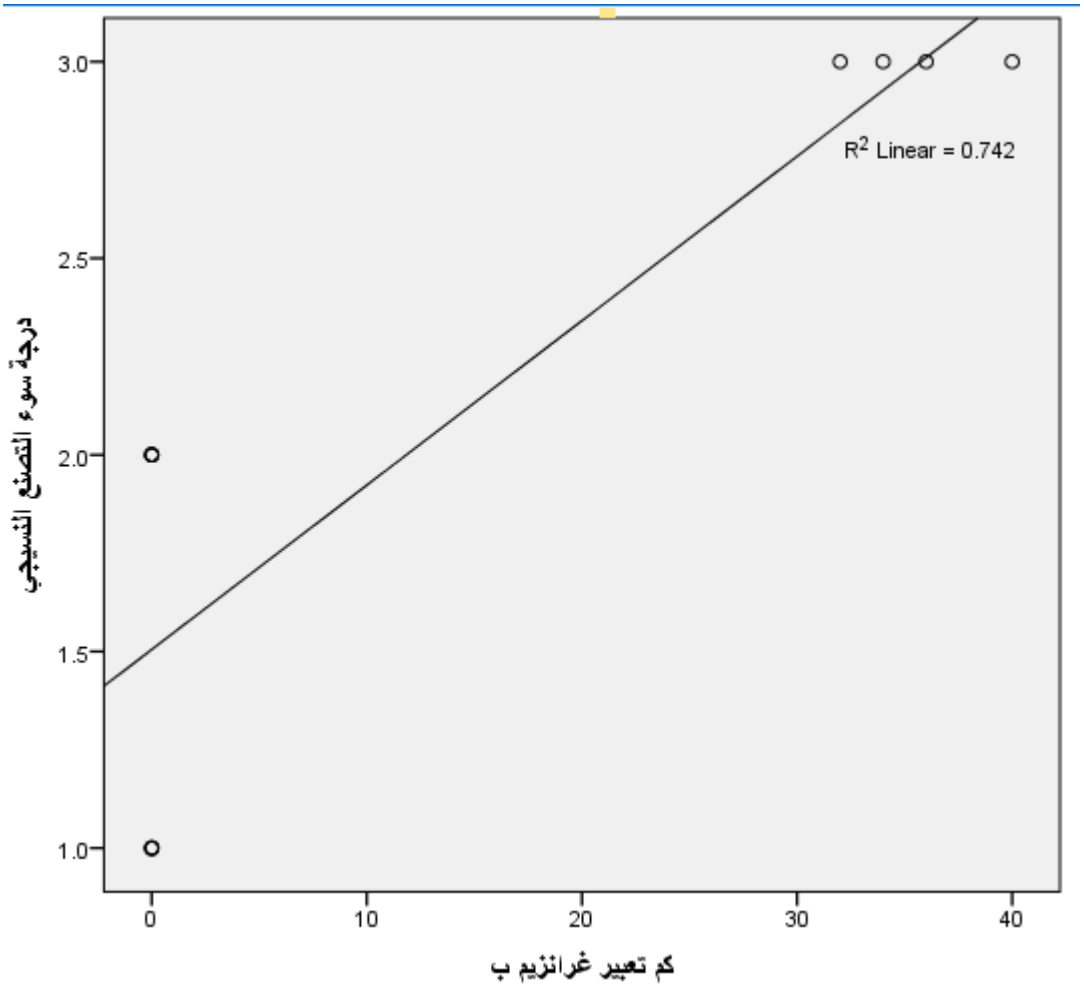
نجد من الجدول 12 وجود ارتباط ايجابي جوهري بين تعبير الغرانزيم ب و درجة السرطان شائك الخلايا الفموي قوي الدرجة $r > 0.5$ في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي.

3-3-3-4 الارتباط بين تعبيرية الغرانزيم ب و درجة سوء التصنع النسيجي الفموي:

تم اختبار وجود الارتباط بين قيم تعبيرية الغرانزيم ب و درجة سوء التصنع النسيجي في مجموعة سوء التصنع النسيجي الفموي باستخدام معامل ارتباط سبيرمان. عرض الجدول 13 نتائج ارتباط المعامل.

الجدول 13: معامل ارتباط سبيرمان بين تعبير الغرانزيم ب و درجة سوء التصنع النسيجي الفموي.

المتغير الثاني	نوع الآفة	المتغير الاول			دلالة القيمة
		درجة سوء التصنع النسيجي الفموي			
		قيمة معامل الارتباط r	عدد العينات	القيمة الاحتمالية	
تعبير الغرانزيم ب	سوء التصنع النسيجي الفموي	0.844	12	**0.001>**	يوجد ارتباط جوهري



مخطط 8: مخطط نقطي يوضح درجات سوء التصنع النسيجي على المحور y و قيم كم تعبير الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي . نلاحظ تجمع معظم النقاط المرسومة بالقرب من الخط المرسوم.

نجد من الجدول 13 وجود ارتباط إيجابي جوهري بين تعبير غرانزيم ب و درجة سوء التصنع النسيجي قوي الدرجة $r > 0.5$ في مجموعة افات سوء التصنع النسيجي الفموي.

3-3-4 دراسة تعبيرية الغرانزيم ب في الآفات الفموية محتملة الخباثة والسرطان شائك الخلايا الفموي تبعاً لكل من متغير العمر والجنس:

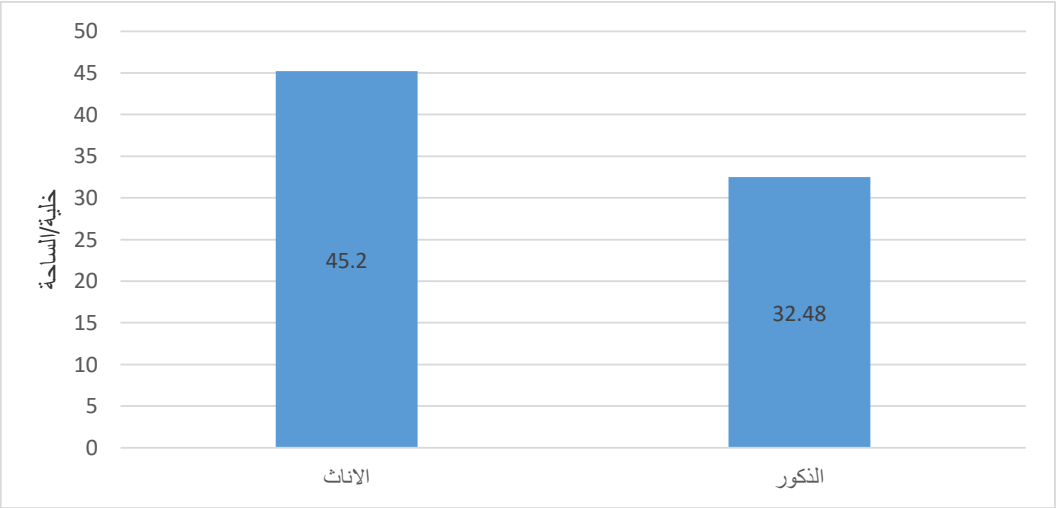
3-3-4-1-الفروق بين الجنسين:

يظهر الجدول 14 البيانات الوصفية لتعبيرية الغرانزيم ب في مجموعات الدراسة المتوزعة بحسب الجنس.

الجدول 14: البيانات الوصفية لتعبيرية الغرانزيم ب في مجموعة الذكور و مجموعة الإناث.

الجنس	العدد	القيمة الأدنى	القيمة الأعلى	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
الاناث	15	0	112	45.20	34.623
الذكور	21	0	100	32.48	26.244

نجد من الجدول 14 أن تعبيرية الغرانزيم ب تراوحت بين 0 خلية/ الساحة الى 112 خلية/ الساحة وبمتوسط حسابي 45.20 خلية/ الساحة في مجموعة الإناث، كما تراوحت تعبيرية الغرانزيم ب بين 0 خلية/ الساحة الى 32.48 خلية/ الساحة وبمتوسط حسابي 45.47 خلية/ الساحة في المجموعة الذكور.



مخطط 9: مخطط أعمدة يوضح المتوسط الحسابي لتعبيرية الغرانزيم ب في مجموعتي الذكور والإناث

3-3-4-2 الإحصاء التحليلي:

نبدأ بتحديد نوع توزع البيانات وذلك بهدف إجراء الاختبار المناسب لمعرفة الفروق بين مجموعتي الجنس، يعرض الجدول 15 نتائج اختبار one-Sample Kolmogorov-Smirnov test لتحديد نمط التوزع.

الجدول 15: نتائج اختبار one-Sample Kolmogorov-Smirnov test لتحديد نمط توزع عينات الدراسة وذلك في مجموعتي الذكور والإناث.

المجموعة	التعداد		كم تعبير الغرانزيم ب
الإناث	العدد		15
	البارامترات الطبيعية	المتوسط	45,20
		الانحراف المعياري	34.623
	إحصائية الاختبار		1.223
	القيمة الاحتمالية للجوهرية		0.101
الذكور	العدد		21
	البارامترات الطبيعية	المتوسط	32.48
		الانحراف المعياري	26.244
	إحصائية الاختبار		0.949
	القيمة الاحتمالية للجوهرية		0.329

نجد من الجدول 15 أخذ القيمة الاحتمالية لاختبار التوزع قيمة أكبر من 0.05 وبذلك نفرض التوزع الطبيعي للبيانات.

3-3-4-3دراسة الفروق بين الذكور و الإناث:

بأخذ التوزع الطبيعي لبيانات تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعتي الذكور و الإناث نحدد نوع الفروق بين تلك المجموعتين باستخدام الاختبارات المعلمية، حيث يعد اختبار t للعينات المستقلة مناسباً لهذا الغرض، يعرض الجدول 16 نتائج هذا الاختبار.

الجدول 16: اختبار t للعينات المستقلة للمقارنة بين متوسطات تعبيرية الغرانزيم ب في مجموعتي الذكور و الإناث.

الفرق بين المتوسطات	قيمة t	مستوى الثقة 95% للفروق		القيمة الاحتمالية	دلالة الفروق
		الحد الأدنى	الحد الأعلى		
12.724	1.255	-7.873	33.320	0.218	لا جوهرية

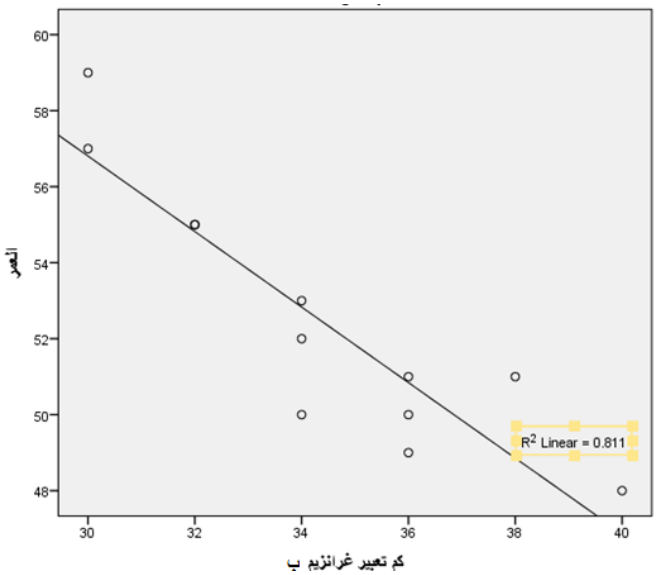
نجد من الجدول16 عدم وجود فروق جوهرية في متوسط تعبيرية الغرانزيم ب بين مجموعتي الذكور و الإناث.

3-3-4-4 الارتباط بين تعبيرية الغرانزيم ب و العمر:

تم اختبار وجود الارتباط بين قيم تعبيرية الغرانزيم ب و العمر في عينة الدراسة باستخدام معامل ارتباط بيرسون وذلك في كل مجموعة على حدا ثم في عينة الدراسة كاملة بغض النظر عن نوع الآفة، يعرض الجدول 17 نتائج ارتباط المعامل.

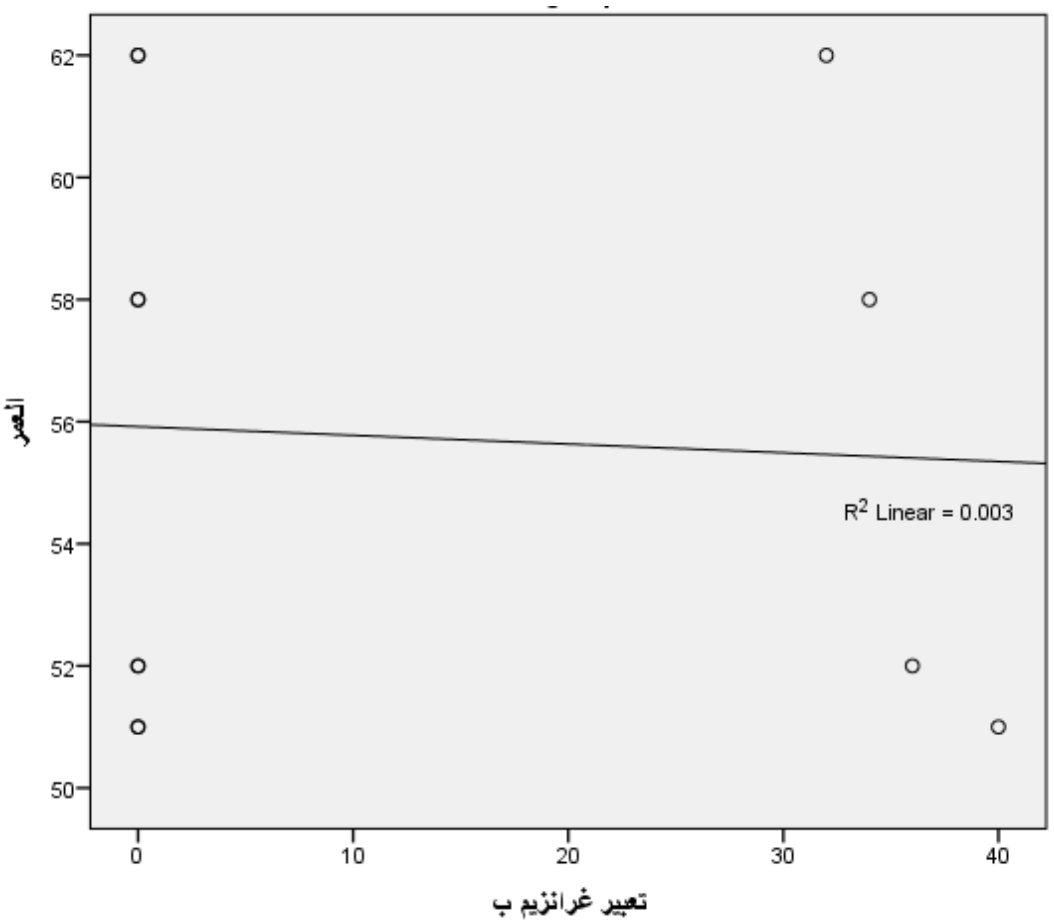
الجدول 17: معامل ارتباط بيرسون بين تعبيرية الغرانزيم ب و العمر.

المتغير الثاني	نوع الآفة	المتغير الاول			دلالة القيمة
		العمر			
		قيمة معامل الارتباط r	عدد العينات	القيمة الاحتمالية	
تعبير الغرانزيم ب	سوء التصنع النسيجي الفموي	-0.90	12	**0.001>**	لايوجد ارتباط جوهري
	الآفات الحزازية الفموية	-0.053	12	0.869	يوجد ارتباط جوهري
	السرطان شائك الخلايا الفموي	0.025	12	0.469	لا يوجد ارتباط جوهري



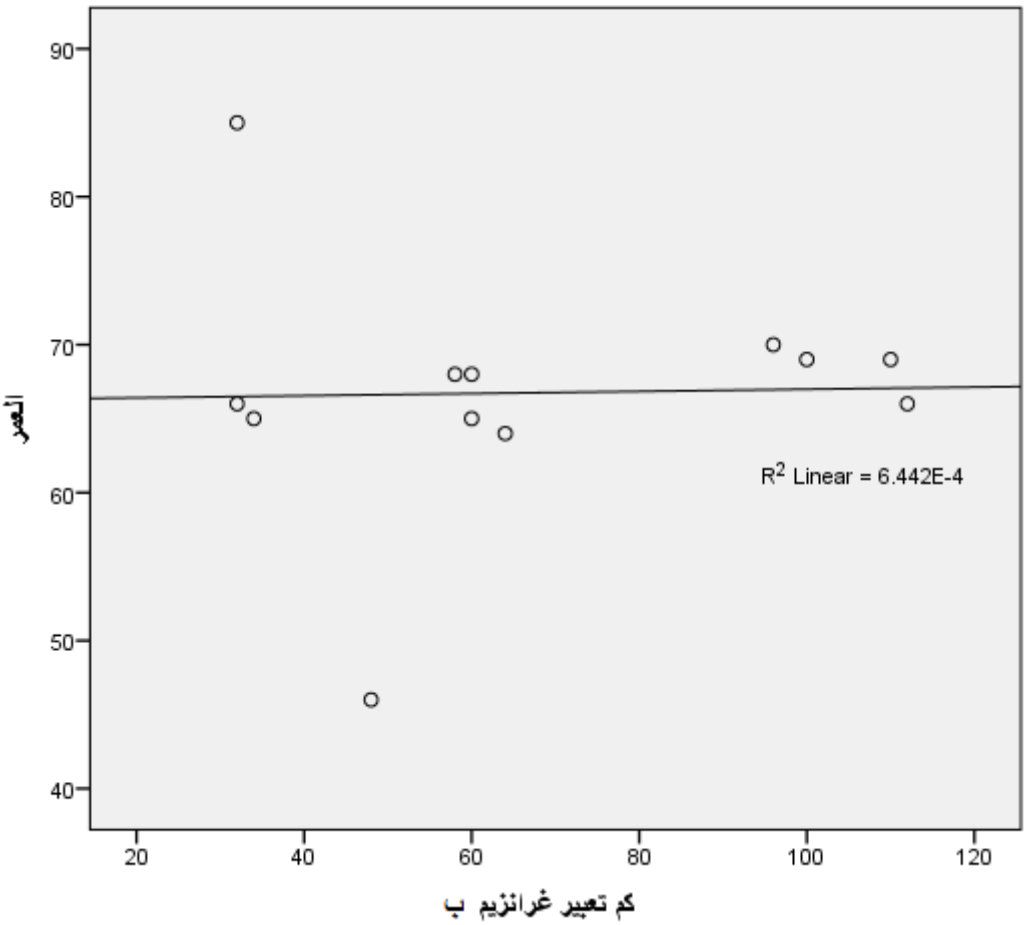
مخطط 10: مخطط نقطي يوضح قيم العمر على المحور y و قيم تعبيرية الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة الحزاز، نلاحظ تجمع معظم النقاط المرسومة بالقرب من الخط المرسوم.

نجد من الجدول 17 وجود ارتباط سلبي جوهري بين تعبيرية الغرانزيم ب و العمر قوي الدرجة $r > 0.5$ في مجموعة الآفات الحزازية.



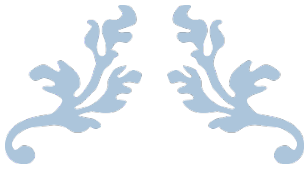
مخطط11: مخطط نقطي يوضح قيم العمر على المحور y و قيم تعبيرية الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي. نلاحظ وجود النقاط المرسومة بعيدة عن الخط المرسوم.

نجد من الجدول 17 عدم وجود ارتباط جوهري بين تعبيرية الغرانزيم ب و العمر في مجموعة آفات سوء التصنع النسيجي الفموي.



مخطط12: مخطط نقطي يوضح قيم العمر على المحور y و قيم تعبيرية الغرانزيم ب على المحور x في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي. نلاحظ وجود النقاط المرسومة بعيدة عن الخط المرسوم.

نجد من الجدول 17عدم وجود ارتباط جوهري بين تعبيرية الغرانزيم ب و العمر في مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي.



المناقشة

Discussion

مناقشة النتائج (Discussion of results):

تُعدّ الآفات الفموية محتملة الخباثة، مثل الحزاز الفموي وسوء التصنع النسيجي،من الحالات التي تشكّل تحدياً سريرياَ وتشخيصياً نظراَ لاحتمال تطورها إلى أورام خبيثة ذات إنذار سيء ، من هنا تبرز أهمية البحث عن مؤشرات حيوية دقيقة تساعد في التمييز بين هذه الحالات وتقييم درجة خطورتها.

ضمن هذا السياق، برز الغرانزيم ب بوصفه أحد البروتينات المحورية التي تفرزها الخلايا التائية السامة والخلايا القاتلة الطبيعية، حيث يؤدي دوراَ رئيسياً في تحفيز عملية الموت الخلوي المبرمج للخلايا المتحولة أو المصابة. وقد أظهرت عدة دراسات أن تعبير هذا البروتين يختلف بشكل واضح حسب السياق النسيجي والمناعي للآفة.

انطلقت هذه الدراسة من فرضية أن تعبيرية الغرانزيم ب قد يختلف بين الآفات الفموية ومراحل السرطان المختلفة، وإن هذا الاختلاف قد يعكس طبيعة الاستجابة المناعية ومدى خطورة الآفة ، وقد سعت إلى مقارنة مستويات التعبيرية النسيجية للغرانزيم ب في ثلاثة أنواع من الآفات: الحزاز الفموي، وسوء التصنع النسيجي الفموي، والسرطان شائك الخلايا الفموي، مع تقييم العلاقة بين هذه التعبيرية وعدد من العوامل السريرية مثل العمر والجنس.

في هذه المناقشة، سيتم استعراض النتائج التي تم التوصل إليها وتحليلها في ضوء الأدبيات العلمية الحديثة، مع تسليط الضوء على أوجه التقاطع والاختلاف مع الدراسات السابقة، وطرح التفسيرات البيولوجية المحتملة، إضافة إلى مناقشة حدود الدراسة والتوصيات المستقبلية.

تشير نتائج دراستنا إلى أن تعبيرية الغرانزيم ب(Granzyme B) تزداد بشكل ملحوظ في السرطان شائك الخلايا الفموي (OSCC) مقارنة بالاضطرابات الفموية محتملة الخباثة، بينما جاءت تعبيرته في الحزاز المسطح الفموي(OLP) أعلى مما هي عليه في حالات سوء التصنع النسيجي الشديد(High-grade OED) هذا الاتجاه يعكس ديناميكيات الاستجابة المناعية ضمن طيف التحول الخبيث والتغيرات الالتهابية المزمنة.

كما ارتبطت تعبيريته في السرطان شائك الخلايا الفموي ارتباطاً وثيقاً مع درجة الإصابة حيث كلما ارتفعت درجة الإصابة زادت التعبيرية.

أظهرت دراسة ل (Ito et al.,2023) وزملائه أن الكثافة العالية للخلايا التائية المتسللة للورم ارتبطت بتعبيرية عالية للغرانزيم ب وتحسن في البقاء على قيد الحياة لدى مرضى السرطان شائك الخلايا الفموي.

أوضحت دراسة نُشرت عام ٢٠٢٣ أن الخلايا التائية السامة في أورام السرطان شائك الخلايا الفموي تعبر عن مستويات مرتفعة من الغرانزيم ب مما يشير إلى دورها في تحفيز موت الخلايا السرطانية.

(Chen et al.,2023) وكلا الدراستين متوافقة مع دراستنا.

في دراسة أجريت عام ٢٠٢١ على السرطان شائك الخلايا في اللسان، أظهرت النتائج أن المعالجة بالغرانزيم ب أدت إلى انخفاض في حجم الورم بنسبة تزيد عن ٢٠% (Zhu et al.,2021) ، يتوافق هذا مع دراستنا من حيث تأثير الغرانزيم ب على الخلايا السرطانية.

واتفقت دراستنا كذلك مع دراسة (Nadia Lago Costa,2010) حيث أوضحت أن المرضى المصابون بالسرطان شائك الخلايا الفموي لديهم ارتفاعاً في نسب الغرانزيم ب المفرزة.

رغم أن تعبيرية الغرانزيم ب تكون مرتفعاة في الدرجة الثالثة من السرطان شائك الخلايا الفموي إلا أن هذا الارتفاع لا يعكس دائماً استجابة مناعية فعّالة، بل قد يدل على بيئة مناعية معقدة خارجة عن السيطرة ، مما يؤدي إلى إنذار سيء حيث توضح دراسة (van Kempen et al .,2016) أن الخلايا السرطانية تفرز أنزيمات SERPINB9 وغيرها من المثبطات، التي تمنع الغرانزيم ب من أداء دوره في تحفيز الموت الخلوي المبرمج، وبالتالي تحدّ من تأثير الخلايا التائية السامة حتى بوجود الغرانزيم ب بنسبة كبيرة داخلياً.

كما أوضحت دراسة(Karpathiou et al.,2016) أن وجود كثافة عالية من الخلايا التائية السامة وبالتالي تعبيرية عالية للغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي لم يكن مرتبطاً بتحسن البقاء وهذا يدل على أن وجود الغرانزيم ب من دون وجود فعالية مناعية حقيقية لايكون مؤشراً إيجابياً.

فيما يتعلق بتأثير الجنس، لم تُظهر دراستنا فروقا معنوية في تعبيرية الغرانزيم ب بين الذكور والإناث في جميع العينات، وهو ما يتماشى مع ما ورد في الأدبيات الحديثة (Liu et al.,2023)حيث لم تثبت علاقة ثابتة بين الجنس والاستجابة المناعية الخلوية في أنسجة الفم.

أما بخصوص العمر، فقد سجلنا ارتباطاً سلبياً بين تقدم العمر وتعبيرية الغرانزيم ب في حالات الحزاز المسطح الفموي، وهو يدعم ما أوردته دراسة (Richardson et al.,2024) حيث يرتبط تقدم العمر بظاهرة تقدم العمر المناعي أو الشيخوخة المناعية (immunosenescence) ، التي تقلل فعالية الخلايا التائية السامة للخلايا. بالمقابل، لم يظهر ارتباط واضح بين العمر وتعبيرية الغرانزيم ب في السرطان شائك الخلايا الفموي أو سوء التصنع النسيجي الشديد، وهو ما قد يُعزى إلى طبيعة البيئة الورمية التي تجذب الخلايا المناعية بآليات تتجاوز تأثير تقدم العمر.

أما في الحزاز المسطح الفموي، فقد أوضحت دراسة (Deng et al.,2023)أن الآفة تتميز بارتشاح كثيف للخلايا القاتلة الطبيعية و الخلايا التائية السامة، وهو ما يفسر الزيادة الملحوظة في تعبيرية الغرانزيم ب مقارنةً بسوء التصنع الشديد.

تتوافق أيضاً دراستنا مع (Jiang et al.,2025) حيث تم توثيق أن الخلايا التائية السامة في آفات الحزاز الفموي تُعبّر عن الغرانزيم ب وتُطلقه باتجاه الخلايا القاعدية، مما يؤدي إلى تحفيز الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) فيها، لوحظ ذلك من خلال تعبير عالي للغرانزيم ب في الخلايا التائية الملاصقة للظهارة الفموية المصابة، هذه الآلية تعدّ من المظاهر الأساسية في تدمير البنية الظهارية للحزاز الفموي.

أظهرت دراسة ل (González-Moles et al.,2020) وزملائه تعبيريةً عاليةً للغرانزيم ب في الحزاز المسطح الفموي حيث بدت التعبيرية بشكل أساسي أسفل الطبقة القاعدية للخلايا في مكان تسلل الخلايا التائية السامة حيث توافقت دراستنا معه ، وكذلك الأمر بالنسبة لدراسة (Filiz Namdar Pekiner ٢٠١٢) عن دور الغرانزيم ب في

المرضى المصابين بالحزاز المسطح الفموي فقد وجد أن هناك فارقاً احصائياً بين المرضى المصابين بالحزاز والمرضى السليمين حيث كانت نسبة الغرانزيم ب أعلى عند المصابين بالحزاز المسطح الفموي.

أوضحت دراسة (Flores-Hidalgo et al.,2024) زيادة في التعبير الجيني (الطفرات) للغرانزيم ب في حالات سوء التصنع الشديد، مما يشير إلى استجابة مناعية نشطة في هذه الآفات ، وهذا يتخالف مع Gonclaves وكذلك مع دراستنا وقد يعود ذلك إلى اختلاف المنهجيات المستخدمة في الدراسات حيث استخدم Flores التحليل الجيني بينما استخدم Gonclavesالتحليل البروتيني وكذلك بالنسبة لدراستنا

في دراستنا، لوحظ أن تعبير الغرانزيم ب في آفات سوء التصنع الشديد كان أقل من تعبيره في السرطان شائك الخلايا الفموي وهو ما يتفق مع الأدبيات العلمية التي تشير إلى أن التحول الخبيث الكامل يُرافقه نشاط مناعي أكثر وضوحًا (خاصة عند بداية تشكل الورم، قبل حدوث التثبيط المناعي). (Rowinski et al.,2021) أظهرت دراسة ل (Gonçalves et al.,2017) أن عدد الخلايا الإيجابية للغرانزيم ب في الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة، بما في ذلك سوء التصنع الشديد، كان أقل بكثير مقارنة بالسرطان شائك الخلايا الفموي ويشير ذلك إلى بيئة مناعية مثبطة في مراحل ما قبل السرطان.

أما بالنسبة للمجموعة الشاهدة لم تأخذ اللون عند تلوينها بالغرانزيم ب حيث كان الغرض منها هو التحقق من أن عملية التلوين المناعي نفسها لا تؤدي إلى نتائج إيجابية خاطئة وبالتالي كانت العينة جزءاً من التصميم التجريبي ولكنها ليست ضمن البيانات الإحصائية.

هذه النتائج مجتمعة تبرز أهمية فهم الدور المتغير للغرانزيم ب في البيئات النسيجية المختلفة، وتؤكد أن التعبير المناعي ليس فقط مرآة للنشاط الالتهابي أو الورمي، بل أيضاً يعكس محاولات التوازن بين الاستجابة المناعية والنشاط الورمي أو الالتهابي المزمن.

٤ – ٢ –الخلاصة:

تُسلّط نتائج دراستنا الضوء على الدور المركزي لجزيء الغرانزيم ب (Granzyme B) كوسيط محوري في ديناميكيات الاستجابة المناعية في الطيف المتنوع من الآفات الفموية، بدءاً من الآفات الالتهابية المزمنة كالحزاز المسطح الفموي، مروراً بسوء التصنع النسيجي الشديد، وانتهاءً بالسرطان شائك الخلايا الفموي أظهرت معطياتنا أن تعبير الغرانزيم ب يزداد بشكل تدريجي مع ازدياد شدة وطبيعة التغيرات النسيجية، مما يعكس محاولات الجهاز المناعي في التصدي لهذه التحولات، يُبرز ذلك أهمية البيئة المناعية الدقيقة في توجيه مسار الآفة، حيث يرتبط نمط التعبير المناعي بتوازن دقيق بين الاستجابات الوقائية والمحفزات الالتهابية المؤدية للتحول الخبيث.

كما تُظهر نتائجنا توافقاً مع ما أوردته الأدبيات الحديثة فيما يخص دور الغرانزيم ب كأحد العلامات المناعية ذات الأهمية التنبؤية، مع خصوصية واضحة في الحزاز المسطح، الذي يبدو أكثر تأثراً بظاهرة الشيخوخة المناعية، مقارنةً بآفات سوء التصنع النسيجي أو الآفات الورمية. في الوقت نفسه، يظل غياب الفروق المعنوية بين الجنسين في هذا السياق معززاً للفكرة القائلة بأن الاستجابة المناعية في الأنسجة الفموية تعتمد بشكل رئيس على طبيعة البيئة النسيجية والتغيرات المرافقة لها، أكثر مما تتأثر بالعوامل الديموغرافية كالجنس.

بالرغم من التقدم المعرفي الذي تسهم به هذه الدراسة، لا بد من الإقرار بوجود حاجة ملحة لإجراء دراسات مستقبلية أوسع وأكثر عمقاً، تشمل عينات أكبر ، للتحقق من قابلية استخدام الغرانزيم ب كمؤشر حيوي (biomarker) للتنبؤ بمآل الآفات الفموية ومراقبة تحوّلها الخبيث، كما ينبغي استكشاف العلاقة بين التعبير المناعي والتحولات الجزيئية الأخرى في بيئة الورم، بهدف تطوير استراتيجيات علاجية مناعية موجهة تواكب التقدم الحاصل في طب الأورام الشخصي (personalized oncology).

الاستنتاجات

Conclusion

الاستنتاجات :

نستنتج في ضوء إمكانيات هذه الدراسة:

1-هناك دور مهم وبارز ومتنوع للغرانزيم ب في الاستجابات المناعية المرافقة للاضطرابات الفموية بمختلف درجات تحولها النسيجي.

2-لوحظ أن تعبيرية الغرانزيم ب كانت الأعلى في السرطان شائك الخلايا الفموي ، يليه الحزاز المسطح الفموي ، مع مستويات أقل في سوء التصنع النسيجي الشديد ،تعكس هذه النتائج تباين طبيعة البيئة المناعية في كل حالة، حيث تلعب كل من المناعة الخلوية والبيئة النسيجية دوراً حاسماً في توجيه المسار المرضي.

3-بينت الدراسة أن الشيخوخة المناعية قد تسهم في خمود الاستجابات المناعية في بعض الآفات الالتهابية المزمنة مثل الحزاز.

4- لايوجد فروق معنوية بين الجنسين والعلاقة المحدودة بين العمر والتعبير عن الغرانزيم ب في بعض الآفات يؤكد الحاجة إلى النظر إلى هذه المؤشرات ضمن إطار بيولوجي شامل.

المقترحات والتوصيات

Recommendations & Suggestions

التوصيات (Recommendations):

1-تشجيع استخدام تقييم تعبير الغرانزيم ب كجزء من التحري المناعي الروتيني في مراقبة الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة، خاصة في مراحل المتابعة المستمرة.

2-إجراء تحاليل متعددة المؤشرات المناعية في العينات النسيجية للمرضى ذوي الآفات الفموية الالتهابية أو السابقة للخباثة لتحسين دقة التقييم الإنذاري.

3-اعتماد منهج متعدد التخصصات بين اختصاصيي أمراض الفم ، الأنسجة، الأورام والمناعة في معالجة ومراقبة هذه الحالات.

4-النظر في استكشاف إمكانيات العلاج المناعي المستهدف من خلال مسارات الغرانزيم ب في سياق العلاجات المستقبلية للأورام الفموية.

المقترحات (Suggestions):

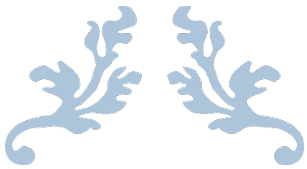
1- تحليل تأثير الشيخوخة المناعية (Immunosenescence) بشكل أعمق، ودراسة كيفية تفاعلها مع بيئة الآفات الالتهابية المزمنة (مثل الحزاز المسطح)، لفهم سبب اختلاف نمط تعبير الغرانزيم ب في هذه الحالات.

2- الاستفادة من تقنيات التحليل الجزيئي المتقدم مثل: (RNA sequencing, spatial transcriptomics) لدراسة التعبير المكاني والديناميكي للغرانزيم ب في الآفات الفموية.

3- دراسة إمكانية استخدام الغرانزيم ب كهدف علاجي (therapeutic target) ضمن استراتيجيات العلاج المناعي للأورام الفموية، من خلال التجارب المخبرية والسريرية.

4- تشجيع الدراسات التي تدمج التحليل المناعي مع الدراسات الجينية (immunogenomic studies) لفهم كيف تؤثر الطفرات الجينية في الخلايا الورمية على استجابة الخلايا المناعية القاتلة.

5- إجراء دراسات موسعة تشمل عينات متنوعة من حيث الجنس، العمر، العوامل البيئية، والأنماط العرقية، بهدف التأكد من تعميم نتائج العلاقة بين الغرانزيم ب ومراحل التحول الخبيث.



References المراجع

Reference

A

Abati, S., Bramati, C., Bondi, S., Lissoni, A., & Trimarchi, M. (2020). Oral Cancer and Precancer: A Narrative Review on the Relevance of Early Diagnosis**. Int J Environ Res Public Health**, 17(24), 9160.

Agha-Hosseini, F., & Hafezi Motlagh, K. (2023). The correlation between human papillomavirus and oral lichen planus: A systematic review of the literature. **Immun Inflamm Dis**, 11(8), e960.

Aljohani, K., Alqarni, A., Harte, M., Alghamdi, R., Alzahrani, S., & Albuquerque, R. (2024). Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Cancer in Saudi Arabia: An Epidemiological Review of the Literature. **J Clin Med**, 13(5):1376.

Amezaga-Fernandez, I., Aguirre-Urizar, J. M., Suárez-Peñaranda, J. M., Chamorro-Petronacci, C., Lafuente-Ibáñez de Mendoza, I., Marichalar-Mendia, X., Blanco-Carrión, A., Antúnez-López, J., & García-García, A. (2024). Epidemiological, clinical, and prognostic analysis of oral squamous cell carcinoma diagnosed and treated in a single hospital in Galicia (Spain): A retrospective study with 5-year follow-up. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, 29(1), e36–e43.

B

Barfi Qasrdashti, A., Habashi, M. S., Arasteh, P., Torabi Ardakani, M., Abdoli, Z., & Eghbali, S. S. (2017). Malignant Transformation in Leukoplakia and Its Associated Factors in Southern Iran: A Hospital Based Experience. **Iran J Public Health**, 46(8), 1110–1117.

C

Chen, H., Sameshima, J., Yokomizo, S., Sueyoshi, T., Nagano, H., Miyahara, Y., Sakamoto, T., Fujii, S., Kiyoshima, T., Guy, T., Nakamura, S., Moriyama, M., Kaneko, N., & Kawano, S. (2023). Expansion of CD4+ cytotoxic T lymphocytes with specific gene expression patterns may contribute to suppression of tumor immunity in oral squamous cell carcinoma: Single-cell analysis and in vitro experiments. **Front Immunol**, 14:1305783.

Chiang, C.-P., Yu-Fong Chang, J., Wang, Y.-P., Wu, Y.-H., Lu, S.-Y., & Sun, A. (2018). Oral lichen planus—Differential diagnoses, serum autoantibodies, hematinic deficiencies, and management. **J Formos Med Assoc**, 117(9), 756–765.

Chowdhury, D., & Lieberman, J. (2008). Death by a Thousand Cuts: Granzyme Pathways of Programmed Cell Death. **Annu Rev Immunol**, 26, 389–420.

Costa, N. L., Alencar, R. de C. G., Valadares, M. C., Silva, T. A., Mendonça, E. F., & Batista, A. C. (2010). The clinicopathological significance of the expression of Granzyme B in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol**, 46(3), 185–189.

Costa, N. L., Gonçalves, A. S., Souza-Lima, N. C., Jaime-Paiva, L. G., Junqueira-Kipnis, A. P., Silva, T. A., Mendonça, E. F., & Batista, A. C. (2011). Distinct expression of perforin and granzyme B in lip and oral cavity squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med**, 40(5), 380–384.

Cowan, C., Gregg, T., Napier, S., McKenna, S., & Kee, F. (2001). Potentially malignant oral lesions in Northern Ireland: A 20-year population-based perspective of malignant transformation. **Oral Dis**, 7(1), 18–24.

Cullen, S. P., & Martin, S. J. (2008). Mechanisms of granule-dependent killing. **Cell Death Differ**, 15(2), 251–262.

D

Deng, X., Wang, Y., Jiang, L., Li, J., & Chen, Q. (2023). Updates on immunological mechanistic insights and targeting of the oral lichen planus microenvironment. **Front Immunol**, 13:1023213.

Deshmukh, V., & Shekar, K. (2021). Oral Squamous Cell Carcinoma: Diagnosis and Treatment Planning. In K. Bonanthaya, E. Panneerselvam, S. Manuel, V. V. Kumar, & A. Rai (Eds.), Oral and Maxillofacial Surgery for the Clinician pp(1853-1867) , **Springer Nature**,pp(1858-1859).

E

Eccles, K., Carey, B., Cook, R., Escudier, M., Diniz-Freitas, M., Limeres, J., Monteiro, L., Martins da Silva, L., Fricain, J.-C., Catros, S., Lodi, G., Lombardi, N., Brailo, V., Loncar Brzak, B., Ariyaratnam, S., & Albuquerque, R. (2022). Oral potentially malignant disorders: Advice on management in primary care. **J Oral Med Oral Surg**,28:36 , 2608-1326.

Eisenberg, E., & Levanon, E. Y. (2013). Human housekeeping genes, revisited. **Trends Genet**, 29(10), 569–574.

El-Naggar, A. K., Chan, J. K. C., Grandis, J. R., Takata, T., & Slootweg, P. J. (Eds.). (2017). WHO classification of head and neck tumours (4th ed., Vol. 9). **Springer Nature** pp(134-136).

F

Filho, A. M., & Warnakulasuriya, S. (2024). Epidemiology of oral cancer in South and South-East Asia: Incidence and mortality. **Oral Dis**, 30(8):4847-4854.

Flores-Hidalgo, A., Phero, J., Steward-Tharp, S., Williamson, M., Paquette, D., Krishnan, D., & Padilla, R. (2024). Immunophenotypic and Gene Expression Analyses of the Inflammatory Microenvironment in High-Grade Oral Epithelial Dysplasia and Oral Lichen Planus. **Head Neck Pathol**,8; 18(1): 17.

G

Gonçalves, A. S., Mosconi, C., Jaeger, F., Wastowski, I. J., Aguiar, M. C. F., Silva, T. A., Ribeiro-Rotta, R. F., Costa, N. L., & Batista, A. C. (2017). Overexpression of immunomodulatory mediators in oral precancerous lesions. **Hum Immunol**, 78(11), 752–757.

González-Moles, M. Á., Warnakulasuriya, S., González-Ruiz, I., González-Ruiz, L., Ayén, Á., Lenouvel, D., Ruiz-Ávila, I., & Ramos-García, P. (2021). Worldwide prevalence of oral lichen planus: A systematic review and meta-analysis. **Oral Dis**, 27(4), 813–828.

Gorouhi, F., Davari, P., & Fazel, N. (2014). Cutaneous and mucosal lichen planus: A comprehensive review of clinical subtypes, risk factors, diagnosis, and prognosis. **Sci World J**, 2014, 742826.

I

Iocca, O., Sollecito, T. P., Alawi, F., Weinstein, G. S., Newman, J. G., De Virgilio, A., Di Maio, P., Spriano, G., Pardiñas López, S., & Shanti, R. M. (2020). Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. **Head Neck**, 42(3), 539–555.

Ito, N., Yamasaki, S., Shintani, T., Matsui, K., Obayashi, F., Koizumi, K., Tani, R., Yanamoto, S., & Okamoto, T. (2023). Tumor-Infiltrating CD45RO+ Memory

Cells Are Associated with Favorable Prognosis in Oral Squamous Cell Carcinoma Patients. **Cancers (Basel)**, 15(8), 2221.

J

Jagadeesan, D., Sathasivam, K. V., Fuloria, N. K., Balakrishnan, V., Khor, G. H., Ravichandran, M., Solyappan, M., Fuloria, S., Gupta, G., Ahlawat, A., Yadav, G., Kaur, P., & Husseen, B. (2024). Comprehensive insights into oral squamous cell carcinoma: Diagnosis, pathogenesis, and therapeutic advances. **Pathol Res Pract**, 261, 155489.

Jayasooriya, P. R., Dayaratne, K., Dissanayake, U. B., & Warnakulasuriya, S. (2020). Malignant transformation of oral leukoplakia: A follow-up study. **Clin Oral Investig**, 24(12), 4563–4569.

Jiang, Q., Wang, F., & Zhou, G. (2025). Keratinocytes stimulate MAIT cells to produce granzyme B via MR1 and cytokines in oral lichen planus. **Oral Dis**, 31(1), 148–159.

K

] Karpathiou, G., Casteillo, F., Giroult, J.-B., Forest, F., Fournel, P., Monaya, A., Froudarakis, M., Dumollard, J. M., Prades, J. M., & Peoc'h, M. (2016). Prognostic impact of immune microenvironment in laryngeal and pharyngeal squamous cell carcinoma: Immune cell subtypes, immuno-suppressive pathways and clinicopathologic characteristics. **Oncotarget**, 8(12), 19310–19322.

Kiselevsky, D. B. (2020). Granzymes and Mitochondria. **Biochemistry (Mosc)**, 85(2), 131–139.

Ko, Y.-H., Park, S., Jin, H., Woo, H., Lee, H., Park, C., & Kim, K. (2007). Granzyme B leakage-induced apoptosis is a crucial mechanism of cell death in nasal-type NK/T-cell lymphoma. **Lab Invest**, 87(3), 241–250.

Kumari, P., Debta, P., & Dixit, A. (2022). Oral Potentially Malignant Disorders: Etiology, Pathogenesis, and Transformation Into Oral Cancer. **Front Pharmacol**, 20:13, 825266.

L

Larimer, B. M., Wehrenberg-Klee, E., Dubois, F., Mehta, A., Kalomeris, T., Flaherty, K., Boland, G., & Mahmood, U. (2017). Granzyme B PET Imaging as a Predictive Biomarker of Immunotherapy Response. **Cancer Res**, 77(9), 2318–2327.

Li, K., Yap, Y. Q., Moujalled, D. M., Sumardy, F., Khakham, Y., Georgiou, A., Jahja, M., Lew, T. E., De Silva, M., Luo, M.-X., Gong, J., Yuan, Z., Birkinshaw, R. W., Czabotar, P. E., Lowes, K., Huang, D. C. S., Kile, B. T., Wei, A. H., Dewson, G., … Lessene, G. (2025). Differential regulation of BAX and BAK apoptotic activity revealed by small molecules. **Sci Adv**,7;11(10), eadr8146.

Lieberman, J. (2003). The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: New weapons in the arsenal. **Nat Rev Immunol**, 3(5):361–70.

Liu, X., Tong, X., Jie, Z., Zhu, J., Tian, L., Sun, Q., Ju, Y., Zou, L., Lu, H., Qiu, X., Li, Q., Liao, Y., Lian, H., Zuo, Y., Chen, X., Rao, W., Ren, Y., Wang, Y., Zi, J., … Zhang, T. (2023). Sex differences in the oral microbiome, host traits, and their causal relationships**. iScience**, 22;26(1):105839.

Lodi, G., Franchini, R., Warnakulasuriya, S., Varoni, E. M., Sardella, A., Kerr, A. R., Carrassi, A., MacDonald, L. C. I., & Worthington, H. V. (2016). Interventions for treating oral leukoplakia to prevent oral cancer. **Cochrane Database Syst Rev**,29; 7(7): CD001829.

Lodi, G., & Porter, S. (2008). Management of potentially malignant disorders: Evidence and critique. **J Oral Pathol Med**, 37(2):63–9.

Lucchese, A., Di Stasio, D., Romano, A., Fiori, F., De Felice, G. P., Lajolo, C., Serpico, R., Cecchetti, F., & Petruzzi, M. (2022). Correlation between Oral Lichen Planus and Viral Infections Other Than HCV: A Systematic Review. **J Clin Med**, 19;11(18): 5487.

M

40-MBBS, A. K. A., PhD, A. H. L. M., & PhD, S. P. M.Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System (6th ed.). Elsevier.pp(336)

Mello, F. W., Miguel, A. F. P., Dutra, K. L., Porporatti, A. L., Warnakulasuriya, S., Guerra, E. N. S., & Rivero, E. R. C. (2018). Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. **J Oral Pathol Med**, 47(7), 633–640.

Mirbod, S. M., & Ahing, S. I. (2000). Tobacco-associated lesions of the oral cavity: Part I. Nonmalignant lesions. **J Can Dent Assoc**, 66(5), 252–256.

Mizoguchi, K., Kawaji, H., Kai, M., Morisaki, T., Hayashi, S., Takao, Y., Yamada, M., Shimazaki, A., Osako, T., Arima, N., Okido, M., Oda, Y., Nakamura, M., & Kubo, M. (2023). Granzyme B Expression in the Tumor Microenvironment as a Prognostic Biomarker for Patients with Triple-Negative Breast Cancer. **Cancers**, 7;15(18):4456.

Mogedas-Vegara, A., Hueto-Madrid, J.-A., Chimenos-Küstner, E., & Bescós-Atín, C. (2016). Oral leukoplakia treatment with the carbon dioxide laser: A systematic review of the literature. **J Craniomaxillofac Surg**, 44(4): 331–6.

Mohamad, I., Glaun, M. D. E., Prabhash, K., Busheri, A., Lai, S. Y., Noronha, V., & Hosni, A. (2023). Current Treatment Strategies and Risk Stratification for Oral Carcinoma. Am Soc **Clin Oncol Educ Book**, 43: e389810.

Mohamedali, K. A., Aguirre, B., Lu, C.-H., Chandla, A., Kejriwal, N., Liu, L., Chan, A. M., Cheung, L. H., Kok, S., Duarte, S., Alvarez de Cienfuegos, A., Casero, D., Rosenblum, M. G., & Wadehra, M. (2024). GrB-Fc-KS49, an anti-EMP2 granzyme B fusion protein therapeutic alters immune cell infiltration and suppresses breast cancer growth. **J Immunother Cancer,** 12(12): e008891.

Morikawa, T., Kosugi, A., & Shibahara, T. (2019). The Utility of Optical Instrument “ORALOOK®” in the Early Detection of High-risk Oral Mucosal Lesions. **Anticancer Res**, 39(5): 2519–2525.

Muller, S., & Tilakaratne, W. M. (2022a). Oral potentially malignant disorders. In Head and Neck Tumours, 5th edition, **Springer Nature** , pp(54-62).

Muller, S., & Tilakaratne, W. M. (2022b). Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. **Head Neck Pathol**, 16(1): 54–62.

P

Patigaroo, S. A., Ali, I., Maqbool, T., Qadri, H., Showkat, S. A., & Latoo, M. A. (2023). Reticular Oral Lichen Planus: A Clinical Experience of ENT Surgeons. **Indian J Otolaryngol Head Neck Surg**, 75(2): 390–396.

Pollaers, K., Hinton-Bayre, A., Friedland, P. L., & Farah, C. S. (2018). AJCC 8th Edition oral cavity squamous cell carcinoma staging—Is it an improvement on the AJCC 7th Edition,**Oral Oncol**, 82: 23–28.

R

Ramos-García, P., González-Moles, M. Á., & Warnakulasuriya, S. (2021). Oral cancer development in lichen planus and related conditions-3.0 evidence level: A systematic review of systematic reviews. **Oral Dis**, 27(8): 1919–1935.

Ranganathan, K., & Kavitha, L. (2019). Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially Regezi, J. A., Sciubba, J., & Jordan, R. C. K. (2016). Oral Pathology: Clinical Pathologic Correlations (7th ed.). **Elsevier**. pp(52-61)

Rich, A. M., Hussaini, H. M., Nizar, M. A. M., Gavidi, R. O., Tauati-Williams, E., Yakin, M., & Seo, B. (2023). Diagnosis of oral potentially malignant disorders: Overview and experience in Oceania**. Front Oral Health**,6:4:1122497.

Richardson, K. C., Jung, K., Matsubara, J. A., Choy, J. C., & Granville, D. J. (2024). Granzyme B in aging and age-related pathologies. **Trends Mol Med**, 30(12):1165–1179.

Rowinski, E., Magné, N., Fayette, J., Daguenet, E., Racadot, S., Pommier, P., Méry, B., Vallard, A., Tinquaut, F., Neidhardt-Berard, E.-M., Cassier, P., Attignon, V., Pissaloux, D., Wang, Q., Sohier, E., Pérol, D., Blay, J.-Y., & Trédan, O. (2021). Radioresistance and genomic alterations in head and neck squamous cell cancer: Sub-analysis of the ProfiLER protocol. **Head Neck**, 43(12): 3899–3910.

S

Safari, F., Akbari, B., Safari, F., & Akbari, B. (2022). Knockout of caspase-7 gene improves the expression of recombinant protein in CHO cell line through the cell cycle arrest in G2/M phase. **Biol Res**,11;55(1)2.

Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2021). Cancer Statistics, 2021. **CA Cancer J Clin**, 71(1):7–33.

Ślebioda, Z., Drożdżyńska, J., Karpińska, A., Krzyżaniak, A., Kasperczak, M., Tomoń, N., Wiśniewska, P., & Wyganowska, M. L. (2024). Oral lichen planus: Clinical presentation, demographic characteristics, and risk factors in a retrospective study of 186 Polish patients. **J Clin Med**, 3;13(23):7363.

Speight, P. M. (2007). Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. **Head Neck Pathol**.1(1): 61–6.

Speight, P. M., Khurram, S. A., & Kujan, O. (2018). Oral potentially malignant disorders: Risk of progression to malignancy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**, 125(6); 612–627.

Susanto, O., Trapani, J. A., & Brasacchio, D. (2012). Controversies in granzyme biology. **Tissue Antigens**, 80(6); 477–87.

T

Tan, Y., Wang, Z., Xu, M., Li, B., Huang, Z., Qin, S., Nice, E. C., Tang, J., & Huang, C. (2023). Oral squamous cell carcinomas: State of the field and emerging directions. **Int J Oral Sci**, 22;15(1):44.

Thamilselvan, S., Pandiar, D., Krishnan, R. P., Ramalingam, K., & Pavithran, P. (2024). Comparison of Broder's and Bryne's grading system for oral squamous cell carcinoma with lymph node metastases and prognosis: A scoping review. **Cureus**, 5;16(1): e51713.

Trapani, J. A., & Smyth, M. J. (2002). Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. **Nat Rev Immunol**, 2(10):735–47.

V

van der Waal, I. (2009). Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. **Oral Oncol**, 45(4–5): 317–23.

van der Waal, I. (2015). Oral leukoplakia, the ongoing discussion on definition and terminology. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**,1; 20(6): e685–92.

van der Waal, I. (2019). Oral leukoplakia; a proposal for simplification and consistency of the clinical classification and terminology. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, 1;24(6): e799–e803.

van Kempen, P. M. W., Noorlag, R., Swartz, J. E., Bovenschen, N., Braunius, W. W., Vermeulen, J. F., Van Cann, E. M., Grolman, W., & Willems, S. M. (2016). Oropharyngeal squamous cell carcinomas differentially express granzyme inhibitors. **Cancer Immunol Immunother**, 65(5); 575–85.

Voskoboinik, I., Whisstock, J. C., & Trapani, J. A. (2015). Perforin and granzymes: Function, dysfunction and human pathology. **Nat Rev Immunol**, 15(6): 388–400.

W

Warnakulasuriya, S., Kovacevic, T., Madden, P., Coupland, V. H., Sperandio, M., Odell, E., & Møller, H. (2011). Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England. **J Oral Pathol Med**, 40(9): 677–83.

Warnakulasuriya, S., Kujan, O., Aguirre-Urizar, J. M., Bagan, J. V., González-Moles, M. Á., Kerr, A. R., Lodi, G., Mello, F. W., Monteiro, L., Ogden, G. R., Sloan, P., & Johnson, N. W. (2021). Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. **Oral Dis**, 27(8): 1862–1880.

Z

Zhu, Z., Ying, Z., Zeng, M., Zhang, Q., Liao, G., Liang, Y., Li, C., Zhang, C., Wang, X., Jiang, W., Luan, P., & Sha, O. (2021). Trichosanthin cooperates with Granzyme B to restrain tumor formation in tongue squamous cell carcinoma. **BMC Complement Med Ther**, 21(1): 88-91.

الملخص

خلفية البحث وأهميته:

تكمن أهمية هذا البحث في دراسة تعبيرية الغرانزيم ب وإنذار هذه التعبيرية في تطور بعض الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة والسرطان شائك الخلايا الفموي وذلك من خلال دراسة مخبرية أجريت على عينات محفوظة في قوالب شمعية .

مواد البحث وطرائقه: تألفت عينة البحث من٤٠ عينة محفوظة في قوالب شمعية، لم تبد عينات سوء التصنع الخفيف والمتوسط تعبيرية للغرانزيم ب بينما القوالب الشمعية لسوء التصنع الشديد أبدت عند دراستها نسيجيا تعبيرية واضحة للغرانزيم ب تم تقطيع هذه العينات وتلوينها بالتلوين التقليدي (H/E)ومن ثم تلوينها مناعيا بالملون المطلوب(الغرانزيم ب) ودراستها تحت المجهر الضوئي

النتائج: وجد فروق جوهرية في تعبيرية الغرانزيم ب بين مجموعتي الآفات الحزازية والسرطان شائك الخلايا الفموي حيث كانت التعبيرية أعلى في السرطان شائك الخلايا الفموي وكذلك الأمر بالنسبة للسرطان شائك الخلايا الفموي وسوء التصنع النسيجي الفموي (الشديد) حيث كانت تعبيرية الغرانزيم ب أعلى في السرطان مما هي عليه في سوء التصنع النسيجي ، كما وجد فروق جوهرية في تعبيرية الغرانزيم ب في آفات الحزاز المسطح الفموي وسوء التصنع الشديد حيث كانت التعبيرية أعلى في الآفات الحزازية من سوء التصنع النسيجي الفموي (الشديد) .

الاستنتاجات: تؤكد نتائج هذه الدراسة أن لجزيء الغرانزيم ب (Granzyme B)دوراً بارزاً ومتنوعاً في الاستجابات المناعية المرافقة للآفات الفموية بمختلف درجات تحولها النسيجي ، لوحظ أن التعبير الأعلى كان في السرطان شائك الخلايا الفموي ، يليه الحزاز المسطح الفموي، مع مستويات أقل في سوء التصنع النسيجي الشديد، تعكس هذه النتائج تباين طبيعة البيئة المناعية الدقيقة في كل حالة، حيث تلعب كل من المناعة الخلوية والبيئة النسيجية دوراً حاسماً في توجيه المسار المرضي ،كما بينت الدراسة أن الشيخوخة المناعية قد تسهم في خمود الاستجابات المناعية في بعض الآفات الالتهابية المزمنة مثل الحزاز، عدم وجود فروق معنوية بين الجنسين

والعلاقة المحدودة بين العمر والتعبير في بعض الآفات يؤكد الحاجة إلى النظر إلى هذه المؤشرات ضمن إطار بيولوجي شامل.

كلمات مفتاحية: الغرانزيم ب، الاضطرابات الفموية محتملة الخباثة ،السرطان شائك الخلايا الفموي .