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

تحرِّي تعبيريَّة بعض واسِمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي للسَرطان شائِك الخلايا في الرأس والعنق

Investigating The Expression Of Some Epithelial to Mesenchymal Transition Markers In The Squamous Cell Carcinoma Of The Head And Neck

أطروحةٌ قُدّمت إلى جامعةِ دمشقَ لنيلِ درجةِ الماجستير في علوم طبِّ الأسنان
في اختصاص علم النسج و التشريح المرضي للفم والأسنان

إعداد الباحث : خالد وليد زيد

إشراف : الأستاذ المساعد الدكتور شريف بركات

استاذ مساعد في قسم النسج و التشريح المرضي للفم والأسنان

كلية طب الأسنان – جامعة دمشق

2014

بسم الله الرحمن الرحيم

SYRIAN ARAB REPUBLIC
Damascus University
School of Dentistry

الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية طب الأسنان

قرار لجنة الحكم على رسالة الماجستير

الإخوة الزملاء -أخواتي الطلبة

بناءً على قانون تنظيم الجامعات الصادر بالقانون رقم /٦/ تاريخ ٢٠٠٦/١/٤ وعلى المادة/١٦٤/من اللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات الصادر بالمرسوم /٢٥٠/ تاريخ٢٠٠٦/٧/١٠ وعلى قرار مجلس التعليم العالي رقم /٦٨/تاريخ ٢٠٠٦/١١/١٦ وقرار مجلس الجامعة رقم ٨/١٤٣٧ تاريخ ٢٠١٠/١/١٥(المتضمن إجراءات القيد في الدراسات العليا وتشكيل لجان الحكم وإجراءات المناقشة العلنية للرسائل و الأطروحات والدفاع عنها ومنح الدرجات العلمية) والمادة الأولى من نظام الدراسات العليا لكلية طب الأسنان التي تهدف "إلى إعداد المختصين في مختلف ميادين طب الأسنان وتأهيل الطلاب وتزويدهم بمستوى عال من المعرفة في مجال اختصاصهم والنهوض والمشاركة بالبحوث العلمية في مجالات طب الأسنان وفي هذه المناسبة نقدم إليكم موضوع رسالة الماجستير للباحث خالد زيد من مواليد **سلمية** ١٩٨٧ حيث تخرج من كلية طب الأسنان جامعة **دمشق** عام ٢٠١٠م، بتقدير **جيد جداً** وانتسب للدراسات العليا عام ٢٠١٠م وسجل موضوع الماجستير في عام ٢٠١٣م، جامعة **دمشق** وقضى **سنة وشهرين** في تحضير رسالته وكان خلال فترة دراسته مثالا للطالب النشيط الذي يتابع أموره بكل دقة ومهارة.

((قرار لجنة الحكم))

بناء على قرار مجلس الشؤون العلمية في جامعة دمشق رقم /٢٣٢٤/ تاريخ ١٩ /٥/ ٢٠١٤م المتخذ بجلسة رقم /١٥/ بالموافقة على تأليف لجنة الحكم على رسالة الماجستير للسيد الباحث خالد زيد

وذلك من السادة الأساتذة التالية أسماؤهم:

١- الأستاذ الدكتور أحمد المنديلي (عضواً)
٢- الأستاذ المساعد الدكتور شريف بركات (عضواً مشرفاً)
٣- المدرس الدكتور علي أبو سليمان (عضواً)

وبعد أن تمت مناقشة هذه الأطروحة والاطلاع عليها و الدفاع عنها بحضور أساتذة و طلاب الدراسات العليا في كلية طب الأسنان وعدد من المهتمين بالبحث العلمي، وذلك في تمام الساعة الحادية عشرة ظهراً من يوم الأربعاء الواقع في تاريخ ٢٠١٤/٦/٢٥م على مدرج كلية طب الأسنان بجامعة دمشق

((عنوان البحث))

تحرّي تعبيريّة بعض واسمات التحول الظهاري الميزانشيمي للسرطان شائك الخلايا في الرأس و العنق

وبعد أن تداولت اللجنة في تقويم الأطروحة و الدفاع عنها ، فقد قررت اللجنة بالإجماع ما يلي

تقييم الأطروحة(٤٥)	العرض والدفاع (٤٥)	نشر البحث (٥)	براءة اختراع (٥)	المجموع (١٠٠)
٤٣,٦	٤٥	٥	-	٩٣,٦

١-منح السيد الباحث خالد زيد من مواليد عام ١٩٨٧ م درجة الماجستير في اختصاص **النسج و التشريح المرضي للفم و الأسنان** بتقدير امتياز

وعلامة قدرها تسعة وتسعون وستة أعشار

٢- يرفع هذا القرار إلى المجالس المختصة للمصادقة عليها أصولا

المدرس الدكتور
علي أبو سليمان

الأستاذ المساعد الدكتور
شريف بركات

الأستاذ الدكتور
أحمد المنديلي

صورة عن قرار لجنة الحكم

تصريح

لا يوجد أيّ جزءٍ من هذه الأطروحة تمّ أخذه بالكامل من عملٍ آخر، أو أنجِز للحصول على شهادةٍ أخرى في هذه الجامعة، أو في أيّة جامعةٍ أخرى، أو أيّ معهدٍ تعليميّ.

الإهداء

الى أمي أبي إخوتي ابنة أختي جوليا ، أصدقائي

كلمة شكر

بعد الحمد والشكر لله الذي أعانني على إتمام هذا البحث، لا يسعني إلا أن أتقدم بفائق الشكر والاحترام لأولئك الذين أناروا دروبنا فكانوا مشاعل اهتدينا بها في طريق العلم لنتخطى الصعاب ونقف واثقي الخطا...

أبدأ بالشكر الجزيل وكل الاحترام والتقدير لأستاذي المشرف **الدكتور شريف بركات** الذي لم يبخل علي بوقتٍ أو جهد، فكان المعلم والأخ والصديق، وقدَّم لي الكثير من النصح والإرشاد والتشجيع خلال مسيرتي العلمية . وأنا هنا لن أوفيه بكلماتي هذه إلا القليل..

كما أتقدم بالشكر الجزيل **للأستاذ الدكتور أحمد المنديلي** الذي غرس في صدورنا حب اختصاص النسج والتشريح المرضي منذ نعومة أظفارنا في كلية طب الأسنان، ولتكرُّمه بقبول المشاركة في تحكيم هذه الأطروحة ، وأتوجَّهُ بفائق الشكر **للمدرس الدكتور علي أبو سليمان** الذي لا أنسى أثره في فترة دراستي الأولى والذي شرفني بمشاركته في لجنة الحكم، فلهما مني كل احترام وتقدير.

الشكر موصول لجميع أساتذتي في قسم النسج والتشريح المرض، رئيس القسم **الدكتور نبيل قوشجي ، والدكتور قصي عزيز، والدكتور ممدوح المحارب** .

كما أتوجه بالشكر والامتنان لإدارة كلية طب الأسنان ممثلة **بالأستاذة الدكتورة رزان خطاب** عميد كلية طب الأسنان، **والأستاذ المساعد الدكتور إياد الشعراني** نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون العلمية، و**الأستاذ الدكتور ياسر مدلل** نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون الإدارية.

اتقدم بجزيل الشكر للسيد **ناصر كتابي** (أبو جمال) الذي كان لنا بمقام الأب ولما قدمه لي من خبرة بالمجال العملي .

كما أنني أشكر زملائي وزميلاتي في قسم النسج والتشريح المرضي و الذين كانو عوناً لي في انجاز هذا البحث

كما لا يسعني أخيراً إلا أن أشكر كل من ساعدني ووقف بجانبي في إنجاز هذا البحث، وإن نسيت ذكر أحدٍ، فإنّه سهواً مني لا تجاهلاً لفضله..

قائمة المحتويات

قائمة المحتويات 1

قائمة المخطّطات البيانيّة 6

قائمة الأشكال التوضيحيّة 7

قائمة الاختصارات 9

المقدّمة introduction 11

أهداف البحث 13

الباب الأول: المُراجَعة النَظَرِيَّة 14

1-1 : السَرَطان :Cancer 15

1-1-1 : تعريف السَرَطان :.....15

1-1-2 : صفات الأورام السليمة والخبيثة : 16

1-1-2-1 :التمَايُز و اللانموذجيَّة : 16

1-1-2-2: معدّل النمو : 16

1-1-2-3: الغزو الموضعي والاستِعمار :.....17

1-1-2-3-1 : الطور الأول : غزو القالب خارج الخلوي 18

1-1-2-3-2: الطور الثاني : الانتشار الوعائي و الاستيطان : 20

1-1-3: الأسُس الجزيئيّة للسَرطان :.....21

1-1-4: الدرجات السريريَّة للسَرطان : 22

1-1-5 : أورام الرأس و العُنُق : 24

1-1-6 : تصنيف أورام الرأس والعُنُق حَسب مُنظمة الصحَّة العالميَّة 25

1-1-7: السَرَطان شائِك الخلايا : 26

1-1-7-1 الوبائيّات : 26

1-1-7-2: أسبابُ الإصَابة : 27

1-1-7-3 الوقاية:.....28
1-1-7-4 موقِع الإصَابة : 28
1-1-7-5:العلامَات و الأعرَاض :.....29
1-1-8: المشاهدات النسيجيّة:.....31
1-1-8-1: الآفات قبيل السَرَطانيّة (سوء التصنّع البشروي):.....31
1-1-8-2: الإصابة السَرَطانيّة :.....31
1-1-8-3: الأشكال النسيجية : 32
1-2: التحوّل الظهاري الميزانشيمي Epithelial to Mesenchymal Transition..... 36
1-2-1 : تعريف التحوّل الظهاري الميزانشيمي 36
1-2-2 : مفهوم التحوّل الظهاري الميزانشيمي 36
1-2-3 : الحاجة إلى عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي.....39
1-2-4 : تصنيف التحوّل الظهاري الميزانشيمي 40
1-2-4-1 : النمط 1 : التحوّل الظهاري الميزانشيمي خلال عمليّة انغراس البويضة الملقّحة و التكوّن الجنيني و تطوُّر الأعضاء:.....41
1-2-4-2 : النمط 2 : التحوّل الظهاري الميزانشيمي المرافق لعمليات التجدّد النسيجي و تليّف الأعضاء :...41
1-2-4-3 : النمط 3 : التحوّل الظهاري الميزانشيمي المُرافق لعمليّة التسرطن و الاستعمار: 42
1-2-5 : واسمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي 45
1-2-6 : مُحرِّضات التحوُّل الظهاري الميزانشيمي 47
1-3 : الارتباط الخلوي Cell junction:..... 49
1-3-1 : موصلات الإرساء.....50
1-3-2 : الموصلات الملتصقة.....51
1-4 : معقّد E-cadherin/catenin..... 52
1-4-1 : بروتين الـ E-cadherin 52
1-4-2 : بروتين β-catenin 54

1-4-3: دور معقّد E-cadherin/catenin في العمليّة الورميّة 55

الباب الثاني : مَواد وطَرائِق البَحث 60

2-1- العيّنة: **61**

2-2: مواد البحث **62**

2-3: الأجهزة المُستخدمة: **65**

2-4: طريقة العمل **67**

2-4-1: تحضير العينات النسيجيّة: 67

2-4-2: طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين – ايوزين : 68

2-4-3: طريقة التلوين المناعي:..... 69

2-4-4: تقييم العيّنة الشاهدة:..... 73

2-4-5: تقييم الدرجة النسيجيّة :..... 73

2-4-6: تقييم التلوين المناعي وطريقة العد :..... 75

2-5: الاختبارات الإحصائية المستخدمة: 78

2-5-1: تحليل التباين One-way ANOVA :..... 78

2-5-2: تحليل ارتباط بيرسون :..... 78

الباب الثالث : النتائج والدراسة الإحصائيّة 80

3-1 عيّنة البحث : **81**

3-2 : الاختبار الإحصائي :..... **85**

3-2-1: دراسة الملوّن E-cadherin : 85

3-2-1-1: العيّنة الشاهِدة : 85

3-2-1-2 : عيّنة الدِراسة :..... 85

3-2-1-3: الدِراسة الاحصائيّة لملوّن E-cadherin 89

3-2-2: دراسة الملوّن β - catenin : 95

3-2-2-1: العيّنة الشاهِدة : 95

3-2-2-2: عيّنة الدراسة 95
3-2-2-3: الدراسة الاحصائية لملوّن β-catenin 99
3-2-3: دراسة العلاقة بين تعبيريّة الملوّنين : 106
الباب الرابع : المُنَاقَشَة 109
4-1 : الكادهيرين الظهاري E-cadherin **111**
4-2 : البيتا كاتينين β –catenin **114**
4-3 : العلاقة بين تعبيريّة كلا الملوّنين **117**
الباب الخامس: الاستِنتاجات 119
الباب السادس : المُقترحات والتوصِيات 121
6-1 : المقترحات **122**
6-2 : التوصيات **122**
الباب السابع : المَراجِع 123
المُلخَّص 131
Abstract 132

قائمة الجداول

جدول (1-1) الدرجات السريرية للسرطان شائِك الخلايا الفموي وفق نظام TNM 24
جدول (1-2) : تصنيف منظمة الصحّة العالمية لأورام الرأس والعنق 25
جدول (1-3) : واسمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي 47
جدول (1-4) : التصنيف الوظيفي للموصلات الخلويّة..... 49
الجدول(2-1) المعايير المتبعة في تقييم الدرجة النسيجيّة. 74
جدول (3-1) توزّع مواقع الاصابات في عيّنة الدراسة..... 82
جدول (3-2) توزع أعمار المرضى في العيّنة 83
جدول (3-3) توزع المُدخّنين في العيّنة..... 84
جدول (3-4) نسب الخلايا المتلوّنة بالـ E-cadherin في عيّنة الدراسة..... 89
جدول (3-5) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّط نسب الخلايا المتلوّنة بالـE-cadherin 90
جدول (3-6) نتائج اختبار Tukey لدراسة فرق نسب التلوّن بين المجموعات الملوّنة بالـ E-cadherin مثنى مثنى.. 90
جدول (3-7) نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 91
جدول (3-8) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لفرق المتوسّطات من حيث الشذوذ تجاه ملوّن E-cadherin..... 92
جدول (3-9) نتائج اختبار Tukey لدراسة فرق الشذوذ بتلوين E-cadherin بين المجموعات مثنى مثنى 92
جدول (3-10) متوسّط نسب التعبيريّة الهيولية للـ E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة 93
جدول (3-11) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لفروق متوسّطات التلوّن الهيولي للـ E-cadherin 93
جدول (3-12) نسب الخلايا المتلونة بالـ β–catenin في عيّنة الدراسة 99
جدول (3-13) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بالـ β-catenin 100
جدول (3-14) نتائج اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات الملوّنة بالـ β-catenin مثنى مثنى..... 100
جدول (3-15) نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 101
جدول (3-16) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّطات نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن β-catenin 102
جدول (3-17) نتيجة اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات الملوّنة بالـ β-catenin مثنى مثنى 102
جدول (3-18) متوسّط نسب التعبيريّة الهيولية للـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة 103
جدول (3-19) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّطات التعبيريّة الهيوليّة للـ β-catenin 103
جدول (3-20) نتيجة اختبار ختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات الملوّنة بالـ β-catenin مثنى مثنى ... 104
جدول (3-21) متوسّط نسب التعبيريّة النووية للـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة 105
جدول (3-22) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لفروق التعبيريّة النووية 105
جدول (3-23) نتائج اختبار Tukey لدراسة فروق التعبيريّة النووية لملوّن β-catenin بين المجموعات مثنى مثنى106
جدول (3-24) حساب قيمة معامل ارتباط بيرسون لتعبيريّة الملوّنين 107
جدول (3-25) حساب قيمة معامل ارتباط بيرسون لنسب الشذوذ في الملوّنين 108

قائمة المخطّطات البيانيّة

مخطّط (3-1) تقسيم العيّنة حسب درجة الإصابة 81
مخطّط (3-2) توزع مواقع الاصابات في العيّنة 82
مخطّط (3-3) متوسّط العمر لدى كل من مجموعات العيّنة 83
مخطّط (3-4) توزع المُدخّنين في العيّنة..... 84
مخطّط (3-5) متوسّطات نسب الخلايا المتلونة بالـ E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 89
مخطّط (3-7) متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 91
مخطّط (3-7) متوسّطات نسب التلوّن الهيولي للـ E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 94
مخطّط (3-8) متوسّطات نسب الخلايا المتلونة بالـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 99
مخطّط (3-9) متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن β-catenin..... 101
مخطّط (3–10) متوسّطات نسب التلوّن الهيولي للـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة..... 104
مخطّط (3-11) متوسّطات نسب التلوّن النووي للـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة 106
مخطّط (3-12) العلاقة بين تعبيريّة ملوّني E-cadherin و β-catenin..... 107
مخطّط (3-13) العلاقة بين الشذوذ في تعبيريّة ملوّني E-cadherin و β-catenin..... 108

قائمة الأشكال التوضيحيّة

شكل (1-1) : المفاهيم الخلوية للتحول الظهاري الميزانشيمي 38
شكل (1-2) : أنماط التحوّل الظهاري الميزانشيمي..... 40
شكل (1-3) دور التحوّل الظهاري الميزانشيمي في العمليّة السَرَطانيّة 45
الشكل (1-4) العوامل وسبل الانتساخ المحرضة للتحول الظهاري الميزانشيمي..... 48
الشكل (1-5) بنية الموصلات الملتصقة 52
شكل (1-6) بنية و وظيفة E-cadherin..... 53
شكل (1-7) : بنية بروتين β-catenin بشكل مبسط..... 55
شكل (1-8) الدور الرئيسي للE-cadherin و β-catenin و وعامل النمو المتحول β و سبل اشارات Wnt في برنامج التحوّل الظهاري الميزانشيمي..... 57
شكل (2-1) الخزعات المحفوظة بشمع البرافين 61
شكل (2-2) العيّنة الشاهدة محفوظة بالفورمالين 61
شكل (2-3) الكزيلول..... 63
شكل (2-4) الكحول 63
شكل (2-5) الملوّنات التقليدية الهيماتوكسيلين والايوزين..... 63
شكل(2-6) الشرائح الزجاجية والسواتر 63
شكل(2-7) ضد وحيد النسيلة لـ E-cadherin..... 64
شكل (2-8) ضد وحيد النسيلة لـ β-catenin..... 64
شكل(2-9) الكيت المناعي المفرد منDako..... 64
شكل(2-10)الكيت المناعي المفرد من Bio-SB..... 64
شكل(2-11) ظروف المحلول الدرائ منDako..... 64
شكل(2-12) محلول استرجاع المستضد Dako 64
شكل (2-13) المبشرة النسيجيّة 65
شكل (2-14) المحم المائي..... 65
شكل(2-15) السخان 66
شكل (2-16) الماكرويف..... 66
شكل (2-17) المجهر الضوئي 66
شكل (2-18) الممص..... 66
شكل (2-19) قلم التحديد 66
شكل (2-21)غمر السلايدات في حوض يحوي السائل الدارئ..... 72
شكل (2-20) تطبيق الضد الأولي..... 72
شكل (2-23) تطبيق HRP على النسيج..... 72
شكل (2-22) تطبيق الضد الثانوي 72
شكل (2-25) تطبيق الكروموجين 72
شكل (2-24) تحضير الـكروموجين..... 72
شكل (2-26) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج 73
شكل (2-27) 74

سرطان شائِك الخلايا درجة أولى 74
شكل (2-28) 74
سرطان شائِك الخلايا درجة ثانية..... 74
شكل (2-29) 75
سرطان شائِك الخلايا درجة ثالثة..... 75
الشكل (2-30)..... 76
مقطع من جزيرة ورميّة قبل المعالجة الحاسوبية 76
الشكل (2-31)..... 76
زيادة حدة الألوان باستخدام برنامج Photoshop cs5..... 76
الشكل (2-33)..... 76
الساحة النسيجيّة الورميّة بعد معالجتها 76
الشكل (2-34) طريقة العد اليدوية لكامل الخلايا الظهاريّة في الجزيرة الورميّة..... 77
الشكل(2-35) عد الخلايا التي أبدت شذوذاً للتلوين (الأصفر للخلايا التي أبدت نقصاً في التعبيريّة ، الأزرق للخلايا التي أبدت تلوناً هيولياً ، الأحمر للخلايا التي أبدت تعبيريّة في النواة)..... 77
شكل (3-1) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في العيّنة الشاهدة . تكبير100 مرّة..... 85
شكل (3-2) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في العيّنة الشاهدة . تكبير 400 مرّة..... 85
شكل (3-3) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 40 مرّة 86
شكل (3-4) تعبيريّة ملوّن E-cadherinفي السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 100 مرّة 86
شكل (3-5) تعبيريّة ملوّن E-cadherinفي السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 400 مرّة 86
شكل (3-6) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 40 مرّة 87
شكل (3-7) تعبيريّة ملوّن E- cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 100 مرّة 87
شكل (3-8) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 400 مرّة 87
شكل (3-9) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 40 مرّة 88
شكل (3-10) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 100 مرّة 88
شكل (3-11) تعبيريّة ملوّن E-cadherinفي السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 400 مرّة 88
شكل (3-12) تعبيريّة ملوّن β-catenin في العيّنة الشاهدة . تكبير 100 مرّة 95
شكل (3-13) تعبيريّة ملوّن β-catenin في العيّنة الشاهدة . تكبير 400 مرّة 95
شكل (3-14) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 40 مرّة 96
شكل (3-15) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 100 مرّة 96
شكل (3-16) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 400 مرّة 96
شكل (3-17) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 40 مرّة 97
شكل (3-18) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 100 مرّة 97
شكل (3-19) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 400 مرّة 97
شكل (3-20) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 40 مرّة..... 98
شكل (3-21) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 100 مرّة 98
شكل (3-22) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 400 مرّة 98

قائمة الاختصارات

الاختصار	المصطلح باللغة الإنكليزية	المصطلح باللغة العربية
AMF	autocrine motility factor	عامل الحركة الذاتيّة
APC	adenomatous polyposis coli	داءُ السَّلاَئِلِ القُولُونِيُّ الوَرَمِيُّ الغُدِّيّ
BMP	bone morphogenetic protein	البروتين المخلّق للعظم
COX2	cyclooxygenase-2	السايكلوأوكسجيناز
DAB	3,3 diaminobenzidine	3,3 ثنائي امينوبينزيدين
E-cad	E-cadherin	الكادهيرين الظهاري
EDTA	(Ethane-1,2-diyldinitrilo)tetraacetic acid	ثنائي أمين الإيثيلين رباعي حمض الخل
EGF	epidermal growth factor	عامل النمو البشروي
EMT	Epithelial to Mesenchymal Transition	التحول الظهاري الميزانشيمي
FGF	fibroblast growth factor	عامل نمو مصوّرات الليف
FSP1	Fibroblast-specific protein-1	البروتين الخاص بمصوّرات الليف
GSK3 β	Glycogen synthase kinase 3beta	انزيم الغليكوجين كيناز
HGF	Hepatocyte growth factor	عامل نمو الخلايا الكبديَّة
HPV	Human papillomavirus	فيروس الورم الحليمي البشري
HRP	Horseradish peroxidase	بيروكسيداز نبات فجل الخيل
IGF	insulin-like growth factor	عامل النمو الشبيه بالأنسولين
IL-6	interleukin-6	الانترلوكين 6
ILEI	interleukin-related protein	البروتين المرتبط بالإنترلوكين
ILK	integrin-linked kinase	الانتغرين المرتبط بالكيناز
LEF	Lymphoid enhancer-binding factor	عامل الارتباط المعزّز للمفاويات

LOXL	lysyl oxidase-like proteins	
MET	Mesenchymal to Epithelial Transition	التحول الميزانشيمي الظهاري
MTA3	metastasis-associated protein 3	البروتين المرافق للاستعمار 3
PAK-1	p21-activated kinase	الكيناز المفعَّل P21
PBS	Phosphate Buffered Saline	المحلول الدارئ الفوسفاتي
PDGF	platelet derived growth factor	عامل النمو المُشتَق من الصفيحات
PGE2	Prostaglandin E(2)	البروستغلاندين E2
PTH(rP)R	parathyroid hormone related peptide receptor	هرمون جارات الدرق المرتبط بالمستقبل الببتيدي
SCF	stem cell factor	عامل الخلايا الجذعيّة
SCP	small C-terminal domain phosphatase	فوسفاتاز نطاق النهاية C الصغير
Shh	Sonic Hedghog	
SMAD	Small mothers agaist decapentaplegic	
Tcf	T-cell-specific transcription factor	عامل الانتساخ الخاص بالخلايا التائيّة
TGF– β	Transforming growth factor	عامل النمو المحوّل بيتا
TNF- α	tumor necrosis factor α	عامل التنخّر الورمي α
UV	ultraviolet light	الأشعّة فوق البنفسجيّة
VEGF	vascular endothelial growth factor	عامل النمو الوعائي البطاني
YB-1	Y-box binding protein.	البروتين المرتبط بـ Y–box
αSMA	α smooth muscle actin	اكتين العضلات الملساء α

المقدّمة introduction

يرتبط مصطلح السَرَطان في أذهان الناس بالمعاناة الجسديّة والنفسيّة التي يخلفها هذا المرض على المصابين به ناهيك عن نسبة الوفيّات المرتفعة التي يُحدثها. يعدّ السَرَطان السبب الثاني للوفيّات في العالم بعد الإصابات الوعائيّة القلبيّة حيث تُشكِّل السَرَطانات حوالي 13% من مُجمل أسباب الوفيّات.

تُعد سرطانات الرأس والعنق من أعتى أنواع السَرَطانات التي تُصيب الإنسان نظراً لعدوانيّتها ونسب الوفيّات المرتفعة الناجمة عنها إضافةً إلى قلّة الخِيارات العلاجيّة المُتاحة . و يأتي السَرَطان شائِك الخلايا للرأس و العنق في المرتبة السادسة من حيث انتشاره مقارنةً مع السَرَطانات الأخرى حول العالم (Rothenberg and Ellisen, 2012) .

أشارت الدراسات إلى أنّ حجم الورم و حالة العُقد اللمفيّة هما العامِلان المستقِلّان الأكثر أهميّةً في تحديد إنذار الأورام، وقد سَعت العديد من الأبحاث لإيجاد عوامل أُخرى تُساعد على تحديد الإنذار، و قد تكون واسِمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي من بين تِلك العَوامل .

يُمثّل التحوّل الظهاري الميزانشيمي الخُطوة الأولى في شلّال الاستعمار نظراً لكونِه يُقدّم الآليّة التي تَلجأ إليها الخلايا الظهاريّة السَرَطانيّة كي تَنفَصِل عن الوَرم الظهاري الأولي . إلّا أن دوره في تطوُّر الأورام لم يُدرس بشكل كاف.

يُعدّ بروتينا E-cadherin و β-catenin من الواسِمات الهامَّة لعمليّة التحوّل و قد تمّ توثيق نَقص أو فقدان تعبيريّة E-cadherin في عَدد كبير من الأورام في العديد من الأعضَاء. ويبدو أنّ دَرجة التمَايُز الورمي في بعض السَرَطانات البشرويّة ترتبِط بنسبة تعبيريّة E-cadherin و

التي تتأثّر بدورها بشكل مُباشَر بالنَقص أو العيوب في عائِلة الكاتينينات التي ينتمي إليها بروتين β–catenin ذو الوظيفة المُضاعفة، حيث أنّه يلعب دوراً محوريّاً في ارتباط الخلايا إلى بَعضِها عن طريق رَبط الكادهيرينات مع الهَيكل الخلوي ، إضافةً إلى دَورِه في سبيل إشارات Wnt الذي له دَور أساسي في العمليّة الورميّة .

أهداف البحث

يهدُف البحث إلى :

1. تَحرّي دور وتغيُّرات بروتين E-cadherin في الدرجَات النسيجيّة المُختلفة للسرطان شائِك الخلايا للرأس والعنق .

2. تَحرّي دور وتغيُّرات بروتين β-catenin في الدرجَات النسيجيّة المُختلفة للسرطان شائِك الخلايا للرأس والعنق .

3. تحرّي وُجود ارتِباط بَينَ كل من البروتينين .

الباب الأول: المُراجَعة النَظَريَّة

Literature Review

1-1 : السَرَطان :Cancer

1-1-1 : تعريف السَرَطان :

يُعرّف الورم بأنّه : تَكاثُر خلوي غير وظيفي يَستمِر بالحُدوث حتَّى بعد زوال العامل المُسبِب ، يَحدُث على حِساب النسج التي استطاعَت خلاياها الهروب من رَقابة وضبط الانقِسام ، تحت تأثير عوامِل مُحرِّضة أثَّرت مورِّثيَّاً بهذِه الخلايا مما جعلها تَتظاهرُ نسيجيَّاً بدرجات متنوِّعة ، كما يُمكن لهذهِ الخلايا المُتكاثِرة في الأورام الخَبيثة أن تَغزو النسج المجاوِرة وأن تَنْتَقِل أيضاً لتَسْتَعمِر في أماكن أخرى (Underwood, 2004) . كما يُعرّف الورم بأنّه تكاثُر خلوي غير مُسَيطر عليه ينمو بشكلٍ دائم دون اتساق مع النسج المجاورة الطبيعيّة و يستمرُّ بذلك السُلوك حتَّى بعد زوال العامِل المُسبِّب.

يُعزى تشكّل السَرَطانات إلى التفاعُل بين المنظومة المورثيّة للشخص وبين ثلاث مجموعات سببيّة هي: العوامِل المُسرطنة الفيزيائيّة، والعوامِل المُسرطنة الكيميائيّة، والعوامِل المُسرطنة الحيويّة أو البيولوجيّة.

تَختلِف الأورام الخبيثة عن السليمة عُمومَاً بقُدرَتِها على الغزو والاستِعمار و معدّل نُموِّها و نقص تمَايُزها و وجود علائِم الخُبْث الخلوي في خلاياها .

يُعتَبر السَرَطان السبب الثاني للوفيّات في الولايات المتَّحدة الأمريكيّة بعد الإصابات الوعائيّة القلبيّة ، وتكمن إمكانيّة السيطرة عليه في معرفة الأسس المرضيّة وفهم الآليات الجزيئيّة له .(KUMAR and ROBBINS, 2013)

1-1-2 : صفات الأورام السليمة والخبيثة :

1-1-2-1 :التمَايُز و اللانموذجيَّة :

التمَايُز الخلوي هو مُصطلح يَصِف العمليّة التي تأخُذ من خِلالها كُل خليّة نمطها الظاهري و وظيفتَها الخاصّة بها لتُصبح خليّة ناضِجة ، كما يشير إلى التَماثُل والتشابُه الشكلي والوظيفي للخلايا ضِمن النسيج . أما اللانموذجيّة فهو مُصطلح نسيجي يَصِف الشذوذ البنيوي في الخلايا (NCI, 2013) .

تتشكّل الأورام السليمة من خلايا جَيِّدة التمَايُز و قليلة الفعاليّة الانقساميّة نسبياً ، وتكون أقرَب إلى الخلايا المُتمَايُزة الطبيعيّة من الناحية الشكليّة و الوظيفيّة ، بينما نَجِد في الأورام الخبيثة طَيفاً واسِعاً مُتبايناً من التمَايُز الخلوي يَتَراوَح من جَيِّد التمَايُز إلى عديم التمَايُز. كلَّما زاد تمَايُز الخلايا تزداد قُدرتُها الوظيفيّة ، كما أنّ نقص التمَايُز و اللانموذجيّة الخلويين يُعدّان من العلامات الأساسيّة للخبث . تتضمّن اللانموذجيّة الخلويّة : تعدّد أشكال وأحجام الخلايا و فرط كروماتين النواة و اختلاف نسبة الهيولى إلى النواة ، وتُصبح النوى اللانموذجيّة شاذّةً بالشكل و الحجم وتزداد رؤية الانقِسامات الشاذّة و تكون المغازِل الانقِساميّة عشوائيّة وفوضويّة ، وقد تكون ثُنائيّة أو ثُلاثيّة الأقطَاب . (KUMAR and ROBBINS, 2013)

1-1-2-2: معدّل النمو :

تُعدّ التوعِية الدمويّة و ضغط الأنسِجة المجاورة من العوامل المؤثّرة على معدّل النمو ، و يرتبط معدّل النمو مع درجة التمَايُز الخلوي فكلّما زادت سرعة النمو قلّ التمَايُز الخلوي . تتّصف الأورام السليمة بمعدّل نمو بطيء على عكس الأورام الخبيثة. (KUMAR and ROBBINS, 2013)

1-1-2-3: الغزو الموضعي والاستِعمار :

تَبقى الأورام السليمة في مكانِها غير قادِرةٍ على الارتشاح أو الغزو أو الاستِعمار و تَتَمَدَّدُ بِبُطْء ، وغالباً تكونُ مُحاطةً بمحفَظة مشتقّة من اللُّحمة الضَامّة . يَرتَشِحُ الورمُ الخبيثُ إلى الأنسِجةِ المُجاورة ، وهو لا يملك مِحفظةً وقد ينمو ببُطءٍ مخرِّباً الأنسجة السليمة المُجاورة له .

الاستِعمار : يُشير هذا المُصطلح إلى تطوُّر ونمو جزر ورميّة ثانويّة من الخلايا ، غير مرتبطة مع البؤرة الورميّة الأوليّة ، في أنسِجة بعيدة .

تنتقل الخلايا السَرَطانيّة بإحدى الطُرق التالية :

1- الانتشار اللمفي : تسلُكه غالباً الخباثات البشرويّة.

2- الانتشار الدموي : تلجأ إليه خباثات النسيج الضام في الغالب (Thiery and Sleeman, 2006).

تُعد عمليّة الانتِشار الورمي من العَمليّات المعقّدة و التي تَحدُث عَبر سِلسِلةٍ من الخُطُوات المتتالية يُطلق عليها اسم : شلّال الغزو و الاستِعمار .

تتألَّف هذه الخطوات من : 1- الغزو الموضعي ، 2- الدُخول إلى الأوعية الدمويّة و اللمفيّة ، 3- الانتِقال عبر الدوران ، 4- الخُروج من الأوعية ، 5- تكوين المُستَعمرات الصغيرة ثمّ نُموّها لتشكّل أورامَاً ثانَويّة .

لِدِراسة شلّال الغزو و الاستِعمار يُمكن أن نقسّم هذه العمليّة إلى طَورين :

الأول : طور غزو القالَب خارج الخلوي .

الثاني : طور الانتِشار الوِعائي و استيطان الخلايا الوَرميّة .

1-1-2-3-1 : الطور الأول : غزو القالب خارج الخلوي

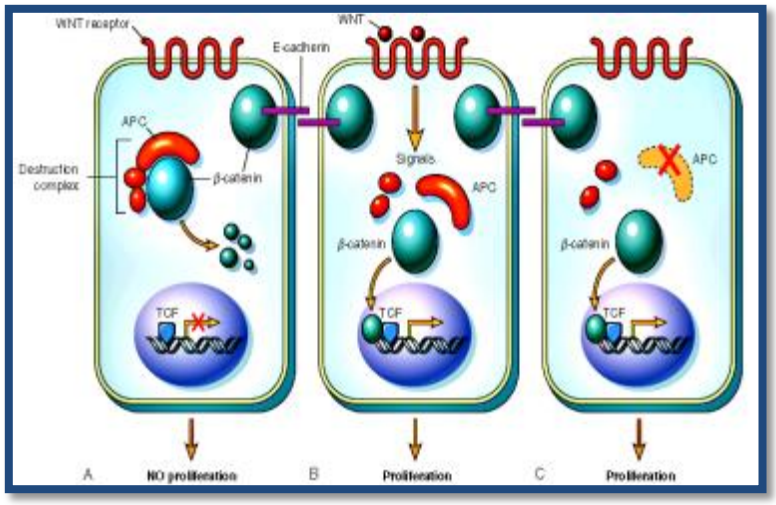
تنفَصِل الأنسِجة لدى البشر عن بعضِها البعض بنوعين من القوالِب خارج الخلويّة هي الغشاء القاعِدي و النسيج الضام الخِلالي . ورغمَ اختلاف ترتِيبِها إلّا أنّ كلا النَوعين يتألَّف من الكولاجينات و الغليكوبروتينات و البروتيوغليكانات .

يتوجَّبُ على الخلايا الورميّة أن تتفاعلَ مع القالب خارج الخلوي في عدّةِ مراحِل ضِمن شلّال الاستعمار ، فمَثلاً يتوجّبُ على السَرَطان الظهاري كي يستَعمِر أن يقوم أولّاً بتمزيق الغشاء القاعدي الواقع تحتَهُ ثمّ أن يجتازَ النسيج الضام الخلالي ليفتَحَ في النهايةِ مَدخلاً إلى الدوران عَبْرَ اختراقِهِ للغشاء القاعدي للأوعيَة ، و تتكررُ هذِهِ العمليّة عندَ خُروج الخليّة الورميّة كي تستَعمِر .

إنّ غزو القالب خارج الخلوي هو عمليّة فعّالة تتطلّبُ اربَع خُطوات هي :

1- تَحرُّر الخلايا الورميّة من ارتِباطاتِها : حيث يقوم بروتين E-cadherin بِرَبط الخلايا بعضها إلى بعض و تقوم أجزاؤه الهيوليّة بالارتباط مع بروتين β-catenin .

تُبْقي جُزيئَات E-cadherin المُتَجَاوِرة الخلايا مُرتَبطةً ببعضِها وتقوم بنقل الإشارات المُضادّة للنمو الخلوي عن طريق احتجاز الـ β-catenin . يفقد E-cadherin وظيفته في جميع السَرَطانات الظهاريّة تقريباً إمّا بسبب الطفرات المخمِّدة لمورّثته الناجمة عن تفعيل مورّثات الـ β-catenin (Berx and van Roy, 2009) ، أو من خلال التعبيريّة غير الملائمة لعوامل الانتساخ SNAIL و TWIST (Barrallo-Gimeno and Nieto, 2005) ، ما يؤدّي إلى كبح تعبيريّة الـ E-cadherin شكل (1-1) .

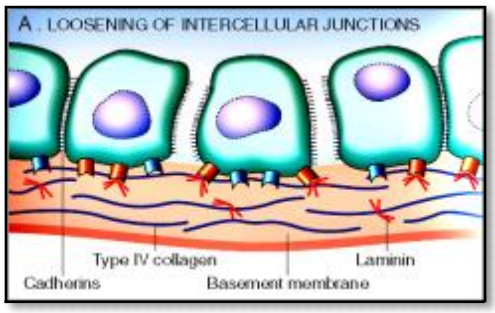


شكل (1-1) العلاقة بين بروتيني E-cadherin و β-catenin في الحالتين الطبيعيّة A ، و الورميّة B+C . (KUMAR and ROBBINS, 2013)

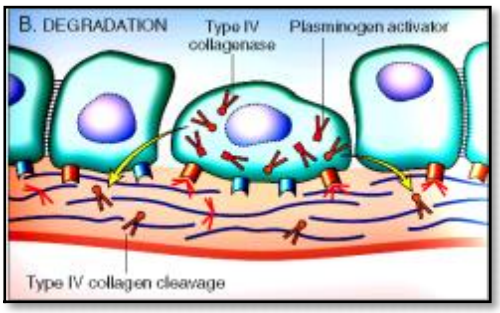
2- التخرُّب الموضعي للغِشاء القاعدي و النسيج الضام الخلالي : قد تقوم الخلايا الورميّة ذاتها بإفراز أنزيمات حالّة للبروتين أو أنّها تحرّض الخلايا اللحميّة مثل صانِعات الليف (Kalluri and Zeisberg, 2006) و الخلايا الإلتهابيّة كي تَصنع البروتياز .

3- التغيُّر في ارتباط الخلايا الورميّة مع بروتينات القالَب خارج الخلوي : تمتلِك الخلايا الظهاريّة في الحالة الطبيعيّة مُستقبِلات (مثل الإنتغرينات) للامينين و الكولاجين الموجودين في الغِشاء القاعدي ، تتوضَّع هذهِ المُستقبِلات في القُطب القاعدي من الخليّة وتُساعِد في الإبقاء على الخليّة في حالة تمَايُز و استقرار . إنّ فُقدان هذا الارتباط في الحالة الطبيعيّة يقود إلى الموت الخلوي المُبرمج الأمر الذي تقاومِه الخلايا الورميّة . يؤدّي ماسبق إلى إيجاد مواقِع شاغِرة للإشارات التي ترتبط مع المُستقبِلات على الخليّة الورميّة وتحرِّضُها على الهِجرة (KUMAR and ROBBINS, 2013) .

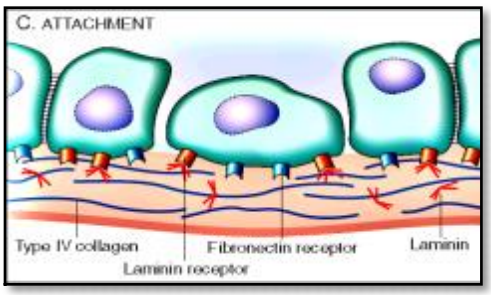
4- الحَركَة الموضِعيّة : تَندَفِع الخلايا الورميّة عبرَ الغشاء القاعدي المُتهتّك ومناطِق النسيج الخلالي المنحلّة شكل (1-2).



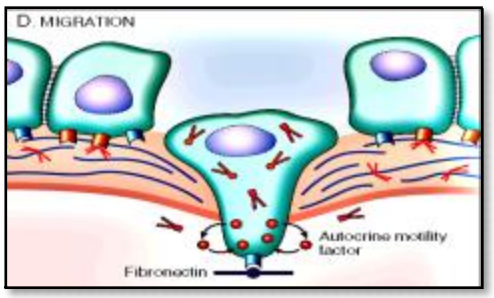
1: فقدان الخليّة لارتباطها مع الخلايا المجاورة



2: التخرّب الموضعي للغشاء القاعدي و النسيج الضام الخلالي



3: التغيّر في ارتباط الخلايا الورميّة



4: الحركة الموضعيّة

شكل (1-2) مراحل غزو الخلايا الورميّة (KUMAR and ROBBINS, 2013)

1-1-2-3-2: الطور الثاني : الانتشار الوعائي و الاستيطان :

تُصبِح الخلايا الورميّة ضمن مجرى الدوران عُرضةً للتحطيم من قِبل الخلايا المناعيّة للمُصاب ، كما أنّها قد تُشكّل صَمّات ضمن مجرى الدوران عن طريق تراكُمها والتصاقِها بالكريّات البيض أو الصُفيحات ، و هذا التراكم يُقدّم لها الحماية من الخلايا المفعَّلة المُضادّة للورم . لكن في الغالِب تكون الخلايا الورميّة ضمن مجرى الدوران مُفردة .

تُغادر الخلايا الورميّة المُفردة أو الموجودة ضمن الصمّات الورميّة عبر التصاقِها مع البِطانة الوعائيّة ثمّ تَعبُر الغشاء القاعدي إلى برانشيم العضو بآليّة مُشابهة لآليّة الغزو . ويمكن التنبؤ بموقِع خروج الخلايا و العضو الذي ستستعمِرُهُ عن طريق معرِفَة موقع الورم الأولي وتوعِيتَه اللمفيّة أو الدمويّة ، حيث تَستعمِر العديد من الأورام إلى العضو الذي يُقدِّم لها أولَ سريرٍ وعائيٍ شعري تُصادِفه بعد دخولِها إلى الدوران (Coghlin and Murray, 2010) .

1-1-3: الأسُس الجزيئيّة للسَرطان :

تؤدّي الطَفرات المورثيّة إلى حُدوث السَرَطان ، وتحدُث الطفرات جرّاء تأثير عدد من العوامل البيئيّة والكيميائيّة و الحيويّة مثل التشعيع والحُمّات الراشِحة.

يمكننا هنا أن نميّز بين أربعة أنواع من المورّثات :

1- المورّثة المحفِّزة للنمو قُبَيل السَرَطاني .

2- المورّثة الكابِحة للنمو .

3- مورِّثة تنظيم الاستِموات .

4- مورّثة ترميم DNA.

تُعدُّ المورّثة المحفّزة للنمو مورّثة مُسيطِرة (سائدة) تكفيها طفرة في أليل واحد كي تُحدِثَ السَرَطان ، في حين أن المورّثة الكابحة للنمو هي مورّثة مُتنحيّة تحتاج لحدوث الطفرة في كلا الأليلين كي تُحدث السَرَطان . ايضاً المورّثة المنظِّمة للاستِموات هي مورّثة سائِدة (KUMAR and ROBBINS, 2013)

تؤدّي الطَفرات التي تُصيب المورّثات الورميّة إلى امتلاك الخلايا السَرَطانيّة للخصائِص التالية :

1- الاكتِفاء الذاتي بإشارات النمو .

2- عدم الحساسيَّة للإشارات الكابِحة للورم .

3- تجنُّب الاستِموات .

4- القُدرة غير المحدودة على التَضاعُف .

5- تطوير تخلُّق وِعائي جديد .

6- القُدرة على الغزو والاستِعمار .

تكمُن أهميّة الأورام بالتأثيرات السريريّة التي تسبِّبُها ومنها :

- ضغطُها على الأنسِجة والأعضاء المُجاورة لها .
- فعَّاليتُها الوظيفيّة كتركيب هرمونات أو تطوير متلازِمة نظير الورم .
- النزف والإنتان و الأعراض الناجِمَة عن التمزُّق .
- الدَنَف و فُقدان الوزن (Hanahan and Weinberg, 2000)

1-1-4: الدرجات السريريَّة للسَرطان :

إنَّ تَحديد مدى الاجتياح السريري للوَرم و انتِشاره يُعدُّ ضرورياً لمعرفة الإنذار الدقيق و تحديد المُعالجة المناسبة. تمّ وضع درجات السَرَطان لتحديد مدى تقدُّم الوَرم و درجة خباثَتِه ، و تأخُذ هذِه الدرجات الأرقام من1 إلى4. تَعتَمد هذِه الدرجات على حجم الورم الأوَّلي و امتِداده للعُقَد اللمفيّة الناحيّة و وجود النقَائل.

يُصنَّفُ السَرَطانُ شائِك الخلايا الفمَوي تِبعاً للمراحِل السريريّة بنظام TNM كما يلي :

(REGEZI et al., 2012)

T– TUMOR

- الورم أصغَر من 2 سم: T1
- الورم 2–4 سم : T2
- الورم أكبَر من 4 سم: T3
- الورم يغزُو بعُمْق النُسج المُجاوِرة: T4

N– NODES

- لا يوجد عُقد مجسوسة: N0
- عُقدة واحِدة مجسوسة في نفس جهة الإصابة بقُطر أصغر من 3سم: N1
- عُقدة واحِدة مجسوسة في نفس جهة الإصابة بقُطر 3–6 سم: N2A
- عُقد متعدِّدة مجسوسة في نفس جهة الإصابة أصغَر من 6 سم: N2B
- عُقد مجسوسة في الجهة المُعاكِسة لجهة الاصابة أو ثُنائيَّة الجانِب أصغر من 6 سم: N2C
- عُقدَة أكبَر من 6 سم: N3

M– METASTASIS

- لا يُوجَد نقائِل: M0
- يوجد نقَائِل بعيدة: M1

Stage الدرجة	TNM
I	**T1,N0,M0**
II	**T2,N0,M0**
III	**T3,N0,M0** **T1-3,N1,M0**
IV	**T4,N0,M0** **T4,N1,M0** **N2-3,M0** **M1**

جدول (1-1) الدرجات السريريَّة للسرطان شائِك الخلايا الفَموي وفق نظام TNM (REGEZI et al., 2012)

1-1-5 : أورام الرأس و العُنُق :

هي الأورام التي تُصيب منطقَة الرأس والعنق وتنشأُ غالِباً من خلايا البَشرة الرصفيّة المُطبّقة التي تُبَطِّن أجوافَ هذِه المِنطَقة ، كما قد تَنشأُ على حِساب النسيج الغدّي نادِراً (في الغدد اللعابيّة) أو من بقايا البَشرة السنيّة. ولا تُصنَّف ضمنها عادَةً أورام الدِماغ والعين والمريء والغدّة الدرقيّة والجلد وفروة الرأس والعضَلات والعِظَام (Barnes et al., 2005) .

يأتي كُلّ من التدخين والكحول على رأس عوامِل الخُطورة التي تُسبِّب الإصابة بسَرطانات هذِه المنطقة ، خاصّةً في الحُفرة الفمويّة والحُنجُرة والبلعوم الأنفي والفَموي . حيثُ يُشكِّل التَدخين وتناوُل الكُحول سبَبَاً للإصابة في 75% من الحالات تقريباً (Curado and Boyle, 2013) . إضافة إلى دور الحُمّة الراشِحة الحليميّة البَشريّة (HPV) كأحد عوامل الخطورة . تُعد هذه الأورام أكثر شيوعاً عِندَ الذكور منها عند الإناث بنسبة الضعف تقريباً (Barnes et al., 2005) .

1-1-6 : تصنيف أورام الرأس والعُنُق حَسب مُنظمة الصحَّة العالميَّة

تُصنَّف إلى ثمّانية مجموعات وفقاً لتصنيف منظّمة الصحّة العالميّة هي:

1	أورام الأنف والجيوب حول الأنفيّة
2	أورام البلعوم الأنفي
3	أورام البلعوم والحُنجرة والرغامى
4	أورام الحفرة الفمويّة والبلعوم الفموي
5	أورام الغُدد اللعابيّة
6	الأورام سنيّة المنشأ
7	أورام الأذن
8	الأورام نظيرة العقديّة

جدول (1-2) : تصنيف مُنظمة الصحّة العالميَّة لأورام الرأس والعنق (Barnes et al., 2005)

نَجِد في هذه المجموعة أنَّ أكثر أورام هذه المنطقة شيوعاً هي أورام الغشاء المخاطي، وسرطاناتها التي تكون متفاوِتة من حيثُ درجة الخباثة، وتتزع للاستِعمار المُبكِّر في العُقد اللمفيّة المجاوِرة. ويُعدُّ السَرَطان شائِك الخلايا أكثر السَرَطانات البشرويّة المُخاطيّة شيوعاً حيث يمثِّل قُرابة 90% من خباثات هذِه المنطقة .

1-1-7: السَرَطان شائِك الخلايا :

ورم بشروي غازٍ موضعيّاً ، لهُ عدّة درجات نسيجيّة وفقاً لِتَمَايُز الخلايا الشائِكة فيه ، ويملك نزعة مبكِّرة لإعطاء نقائِل إلى العُقد اللَمفيّة . يُصيب هذا السَرَطان الأشخاص في الأعمار المُتقدِّمة ، وخاصّة في العَقدين الخامِس والسادِس . و يميل لإصابة الذُكور أكثَر من الإناث. تُعزى الإصابة بهذا السَرَطان إلى مَجموعة من الأسباب والعوامِل المؤهِّبة مثل التدخين وتناوُل الكُحول (Curado and Boyle, 2013) والإصابة بالحُمَّات الراشِحة خاصّة الحمّة الراشِحة الحليميّة البشريّة HPV (Joseph and D'Souza, 2012). ينشأ هذا السَرَطان على حسابِ الخلايا الشائِكة في البَشَرة و يُمكِنُ أن يستَعمرَ إلى العُقدِ اللمفيّة ومِنها إلى مناطقَ بعيدة في الجسم .

1-1-7-1 الوبائيّات :

يشكّلُ السَرَطان شائِك الخلايا أكثر من 90% من الخَبَاثاتِ التي تُصيبُ الحفرةَ الفمويّةَ و البلعوم و يُلاحظُ أنَّ الرِجالَ أكثرُ إصابةً من النِساء و تكونُ النسبة اثنين لواحد بينما كانت سابقاً ثلاثةً لواحد و ذلك لزيادة انتشار عادة التدخين لدى النساء و غالباً يُصابُ الأشخاصُ الأكبر من 50 سنة.

يُعتَبرُ الكُحولُ و التَبغُ سببان رئيسيّان لتشكُّل السَرَطان ، و قد يَرتبِطُ نشوءُ السَرَطان مع عادة مضغ التبغ كما في الهند (Balagopal et al., 2012) .

عالميَّاً سُجِّلت 1,650،388 حالة في عام 2000. كان 672،266 حالة منها في الحُفرةِ الفمويّة و 978،122 منها في البلعوم، هذا وقد شكَّلَت هذِه الإصابات 5% من السَرَطانات التي أصَابت

الرجال و 2% من السَرَطانات التي أصابت النساء. كان السَرَطانُ سبباً للموتِ لدى 2% من الرجال و 1% لدى النساء.

تُعدُّ فرنسا والجزءُ الغربي لسويسرا و شمالُ ايطاليا و شرقُ أوروبا خاصّةً هنغاريا و جزء من أمريكا اللاتينيّة أكثَر المناطِق إصابَةً، وتكون نِسبةُ الإصابَةِ أعلى لدى الذكور، وترتفع نسبة الإصابة في جنوب آسيا لدى الذكور و الإناث (Barnes et al., 2005) ، كما أن أكثر من 25000 حالة تُسجَّلُ في الولايات المتحدة كلَّ سنةٍ ، ويُصَابُ السود الأمريكيون أكثرَ بمرّتين من البيض و يكون سبباً لموت 9500 شخصاً سنوياً في الولايات المتّحدة،(Thompson, 2006) و تكثرُ إصابةُ الشفَّه والمناطِق المكشوفة للشمس لدى الأستراليين (Abreu et al., 2009) .

1-1-7-2: أسبابُ الإصَابة :

- التبغ و الكحول

يُعتَبرُ التبغُ و الكحولُ عامِلا خطورةٍ أساسيين، يَرتبِطانِ مع 75% من الإصابات في أوروبا و أمريكا و اليابان، ويُعتبرُ الكحولُ عامِلاً أساسيًّاً للإصابة في شمال أوروبا بينما يكونُ التبغُ مُسبِّبَاً أكبر في جنوب أوروبا، كما تشكِّلُ الأشعةُ فوق البنفسجيةِ و تَدخينُ التبغِ دَوراً أساسيّاً بإصابة الشفة، أمَّا مضغُ التبغِ فيرتبطُ مع 50% من سرطاناتِ الحُفرةِ الفمويّة لدى الذكور في الهند و 90% من الإصابات لدى الإناث. تُعدُ مُنتجاتُ التبغِ التقليديّة في السودان و الشرق الأوسط مُسرطِنةً بشكلٍ شديد لاحتوائِها معدّلات عالية من أمينات النتروز.(Barnes et al., 2005 , Thompson, 2006)

- الفيروس الحليمي البشري : (HPV)

إنَّ الفيروسات الحليميّةَ البشريّةَ و خصوصَاً الأنماط ذات القُدرة المورثيّة الورميّة في الجِلد و الجهاز البولي مثل HPV16 و HPV18، اللذين يوجَدان بكميَّاتٍ مُتباينِة ولكن قليلة في الفم يكونان مسؤولين عن 50% من إصابات البُلعوم واللّوزات بسرطان شائِك الخلايا و يلعبان دوراً أقل في سرطانات الحفرة الفمويّة.(Barnes et al., 2005)

1-1-7-3 الوقاية:

تؤكّدُ الدراساتُ الحديثة على ضرورةِ إيقاف تناول التبغ و الكحول، وعلى التأثير الوِقائي للغذاء الغني بالفواكه والخُضار وتمَّ توضيح الدور الوقائي للغذاء الغني بالفيتامين و مُضادات الأكسدة بعدة دراسات. (Alnour, 2012) (, Taghavi and Yazdi, 2007Barnes et al., 2005)

1-1-7-4 موقِع الإصَابة :

قد تنشأ الأورام في أي مكان من الحُفرةِ الفمويّة ، و تَختلفُ الأماكِن الأكثر شيوعاً للإصابة حَسبَ المنطقة التَشريحيّة ما يعكسُ اختلافَ عواملِ الخُطورة . يُصيبُ السَرَطانُ الشائِكُ الخلايا الشفة السفليّةَ أكثر من الشفه العلويّة ، أمّا داخلَ الحفرةِ الفمويّة فإنَّ المناطِقَ التي قد ينشأُ مِنها السَرَطان هي المُخاطيّة الخديّة واللثة العلويّة والسفليّة وقبّة الحنك الصلبة والثلثان الأماميّان للسان بما فيهما السطحان العلوي والسفلي وحواف اللسان وقاع الفم.(Thompson, 2006)

عند دراسة الأورام الصغيرة اللاعرضيّة فإنَّ أكثَرَ المناطِقِ إصابةً هي قاعُ الفمِ وجوانبُ اللسان و الحنك الرخو. أما في منطقةِ البلعوم فتكمنُ الإصابةُ في قاعدةِ اللسان و أخاديد اللّوزات و الحُفيرات اللوزيّة و الجدار الخلفي و العُلوي للحنك الرخو. (Barnes et al., 2005)

1-1-7-5:العلامَات و الأعرَاض :

لا يُبدي المرضى المُصابون بأورامٍ فمويّةٍ صغيرةٍ عادةً أيّةَ علاماتٍ أو قد تظهرُ لديهم أعراضٌ مُبهمةٌ دون أعراضٍ سريريّةٍ واضِحة لذلك يجبُ أن يتمَّ تدبيرُ هذِه الآفات بعنايةٍ شديدةٍ وتشخيصُها مُبكِّراً .(Neville, 2009)

قد تظهرُ لدى المريضِ آفاتٌ حمراء أو آفاتٌ مختلطةٌ حمراء و بيضاء أو تظهرُ لويحاتٌ بيضاء فقط و قد يُلاحظُ وجودُ آفاتٍ بيضاء طلاويّة قُربَ الآفاتِ الورميّة. قد يدلُّ هذا على تطوُّر الورم من آفاتٍ بيضاء سابقة الوجود تُدعى الآفات قُبيل السَرَطانيّة Premalignant Lesions.

تَتظاهرُ الآفات قبيل السَرَطانيّة المبكِّرة بتغيُّراتٍ بيضاءَ أو حمراء ، بينما تتظاهرُ الآفاتُ السَرَطانيّةُ على شكلِ آفات تقرحيّة كبيرة مسطّحة أو كتلة منتبجة فطريّة الشكل، يتراوحُ لونها بينُ الأبيضِ والرمادي.(Thompson, 2006)

تختلِفُ الأعراضُ حسب المنطقةِ الفمويّة المُصابة، وتبدو أعراضُ الآفاتِ المُتقدّمةِ على شكلِ كُتلة نسيجيّة مُخاطيّة متقرِّحة مع ألم مُتشعّع ورائحة فمويّة كريهة. يُعاني المصابُ من صعوبة الكلام و فتح الفم و المضغ والنزف العفوي، و فُقدان الوزن. قد يراجعُ بعضُ المرضى مع عقد رقبيّة منتبجة دون أيّة أعراض فمويّة. و قد تظهر الآفات المتقدّمة جداً على شكل مناطق

متقرّحة واسِعة ومناطق تموّت مع امتداد باتجاه التراكيب التشريحيّة المجاورة كالعظم و العضلات و الجلد، و يملك30% من المرضى نقائل للعقد اللمفيّة الناحيّة.(Thompson, 2006)

يتطوَّر تضخُّم في العقد اللمفيّة تحت الفك لدى ثُلثي المرضى المصابين بأورام المخاطيّة الدهليزيّة و اللثّة و يظهر تضخّم العقد الرقبيّة عند ثلاثة أرباع المرضى المصابين بسرطان قاع الفم و اللسان.(Barnes et al., 2005)

- تُعدُ إصابةُ اللسان أكثر الإصابات داخل الفم إذ تشكّلُ 25%إلى 40% من الإصابات. نادراً ما تُشاهدُ بالأعمارِ الصغيرةِ على عكسِ العَقدِ السادس و السابع و الثامن حيث تظهر غالباً كآفةٍ بيضاء أو حمراء و بيضاء، تحدث معظم الإصابات في الثلث الخلفي و نادراً ما تُعطي نقائل إلى العقد اللمفيّة و خاصّة إلى العقد الرقبيّة، تكون العقد المصابة عادةً في الجانب نفسه و قد تُشاهَد نقائل بعيدة للرئة والكبد.
- يعدُ أرض الفم ثاني أكثر المناطق إصابة بالسَرَطان بنسبة 15 إلى 20% ويُصيب الأعمار المتقدّمة. يكون غيرَ مؤلمٍ و تكون القرحةُ غير نظيفة و يظهر كلويحة حمراء أو بيضاء، والنقائل تكون باتجاه العقد تحت الفك.
- يُشكّلُ السَرَطان في الخد و اللثة 10% من مُجملِ الإصابات. يُصيب الرجالَ في العقدِ السابعِ غالباً و يكونُ عبارةً عن لويحةٍ بيضاء مع قرحةٍ غير نظيفة القعر.
- سرطان قبّة الحنك: يُشكّلُ 10 إلى 20% من الإصابات و يعتبر السَرَطان شائِك الخلايا نادراً مقارنةً مع سرطانات الغُدد اللعابيّة الصغيرة. يظهرُ كلويحةٍ حمراء أو بيضاء أو متقرّحة و كتل متقرّنة ، تشاهد النقائل في العقد الرقبيّة.(Regezi et al., 2008)

1-1-8: المشاهدات النسيجيّة:

1-1-8-1: الآفات قبيل السرَطانيّة (سوء التصنّع البشروي):

تتَّصِف بمايلي: فَرط تَصنُّع وفُقدان قُطبيَّة الخلايا القاعديَّة وتعدُّد أشكال الخلايا و زيادة الأشكال الانقساميَّة وسوء التقرُّن واختلال التطبُّق الخلوي وفَرطُ اصطِباغ النوى واختلاف نسبة النواة إلى الهيولى والتقرُّن الخلوي المفرد وقد تكون هناك زيادة في اللمفاويّات والمصوّريّات تحت البشرة ، تتباين شِدَّة الإصابة من الخفيفة الى المتوسِّطة و الشديدة وصولاً الى مرحلة السرطان الموضع. (Rostogi V et al., 2013)

1-1-8-2: الإصابة السرَطانيّة :

يبدو تخرّب الغشاء القاعدي مع تشكّل جزر وحبال من الخلايا البشرويّة الشائِكة مختلفة التمَايُز. تكون هذِهِ الجزرُ مُرتشِحَةً وغازية للنسيج الضام وقد تُلاحَظُ كرات تقرّن. تكون اللّحمة الضامّة كثيفة حول الخلايا السرَطانيّة ونلاحظ رُشاحة لمفيّة غزيرة. (REGEZI et al., 2012)

يُمكِنُ تصنيف المُشاهدات النسيجيّة حسب التمَايُز الخلوي إلى:

- إصابات جَيِّدة التمَايُز Well differentiated: تُشبه فيها الخلايا التي تغزو النسيج الضام الخلايا الشائِكة للبشرة و نُلاحظُ وجود كُرات تقرّن ويكون حجم الجزر الورميَّة كبيراً .
- إصابات متوسّطة التمَايُز Moderately differentiated: يلاحظ تعدُّد أشكال النوى مع فعاليّة انقساميّة عالية و انقسامات شاذّة و تكون كرات التقرّن قليلة نسبياً.

- إصابات ضَعيفة التمَايُز Poorly differentiated: لا نُشاهد فيها خلايا ناضِجة بل يلاحظ كثرة الانقسامات الشاذّة وتكون كرات التقرّن نادِرة وتكون الجزر الورميَّة صغيرة و الخلايا البشرويَّة مبعثرة .(Barnes et al., 2005)

■ تستطب الجراحة و المعالجة الشعاعيّة لمعالجة المراحل المبكّرة و قد يُلجأ إلى المعالجة الكيميائيّة في المراحل المتقدّمة. تكون نسبة النجاة لخمسة سنوات 50–55% بعد إجراء المعالجة المناسبة.(Thompson, 2006)

1–1–8–3: الأشكال النسيجية :

يمكن أن نميِّز عدّة اشكال نسيجيّة إضافةً للشكل التقليدي للسرطان شائِك الخلايا وهي :

1– السَرَطان شائِك الخلايا الثؤلولي :

يشكِّل الشكل الثؤلولي 75% من حالات السَرَطان في الحفرة الفمويّة . ينمو الشكل الثؤلولي ببطء و يظهر غالباً لدى الذكور المتقدّمين في العمر و المُدخّنين كما لوحظ الفيروس الحليمي البشري في أكثر من 40% من الحالات . يكون السَرَطان الثؤلولي بحدود واضحة و الطبقة المتقرّنة تتسمّك بسرعة و تشكّل حليمات كليلة أو مستدقّة و تكون الآفة بلون زهري أو أحمر حمامي و يرتبط لونها بشكل أساسي بسماكة و تطوُّر الطبقة المتقرّنة و بكثافة الرشاحة المناعيّة تحت الورم وتُعد آفة غير عرضيّة ، لا يشاهد تقرّح السطح و النزف إلا إذا وجدت بؤر للسرطان شائِك الخلايا التقليدي . تُعد الانقسامات الخلويّة نادرة و تُشاهد في الطبقة القاعديّة ، يتّجه السَرَطان باتجاه النسيج الضام مفضّلاً دفع الغشاء القاعدي على الارتشاح و يكون معدّل النجاة

80–90% لخمسة سنين بعد الاستئصال الجراحي. (Neville, 2009) (Odar et al., 2014)

2– السَرَطان شائِك الخلايا المشبّه بالقاعدي :

نادر في الحفرة الفمويّة و أكثر حدوثاً في البلعوم يشاهد لدى الجنسين و يغلب لدى الذكور في عمر 60–80 سنة و يعتبر التدخين و الكحول عامِلان أساسيان للإصابة . يظهر الورم ككتلة معنّقة مؤلِمة و مُتقرّحة بالمَركز قد يُسبِّب بحّة في الصوت إذا كان في الحُنجرة و يُسبّب في حال إصابة الحلق عُسر بلع و سُعال و نزف و خسارة بالوزن. يتكوّن نسيجيّاً من مكوّنين خلويّين هما الخلايا المشبّهة بالقاعديّة التي تكون صغيرة و النواة زائدة الصباغ بدون نويّات و هيولى قليلة و خلايا بشرويّة شائِكة ، يكون الورم عدائيّاً سريع النمو وقد سُجّلت نقائل إلى العقد اللمفيّة في ثُلثي الحالات و كذلك سُجّلت نقائل للرئة و العظم و الجلد والدماغ في 35–50% من الحالات ، يرتبط وجود هذا الشكل دائماً بوجود السَرَطان شائِك الخلايا و بشكل أقل بوجود السَرَطان شائِك الخلايا المغزلي.(Fritsch and Lentsch, 2014)

3– السَرَطان شائِك الخلايا الحليمي :

يحدُث بشكل غالِب لدى الذكور في العقد السادس و السابع و يعتبر الكحول والتبغ عاملان أساسيان للإصابة بالإضافة لفيروس الورم الحليمي البشري . تصاب الحنجرة و البلعوم السفلي أكثر من الحفرة الفمويّة و يكون الورم على شكل حليمة طريّة هشّة خارجية النمو .

قد تشاهد النقائل للعقد اللمفيّة الناحيّة و لكن النقائل البعيدة نادرة. يظهر نسيجيّاً كامتدادات حُليميّة مدعومة بنسيج ليفي وعائي و محاطاً بطبقة قاعديّة و يُلاحظ تعدّد في الأشكال الخلويّة ، و يكون التقرّن بحدِودهِ الدنيا كما قد تُشاهد بؤر من التموّت و النزف.

يكون الإنذار أفضل من السَرَطان شائِك الخلايا التقليدي و يتحسّن الإنذار كلّما قلّ الارتشاح باتجاه النسيج الضام. (, Barnes et al., 2005Cawson and Odell, 2008)

4- السَرَطان ذو الخلايا المغزليّة :

يُصيب الرجال بالعقد السابع بشكل رئيسي و يكونُ مثل غيره مرتبطاً مع التدخين و الكحول و قد يتطوُّر بعد التعرّض الشعاعي . تُعد الحنجرة أكثر الأماكن إصابة في الرأس و العنق ، و يكون الورم متباين الحجم و له سطح متقرّح . أعطت أكثر من 25% من الحالات نقائل للعقد اللمفيّة الناحيّة وأعطت 5-15% من الحالات نقائل بعيدة. تشكّل الخلايا المغزليّة لحمة الورم و معدّل النجاة كان 65-95% لخمس سنوات. (, Thompson, 2006Barnes et al., 2005)

5- السَرَطان شائِك الخلايا انحلالي الأشواك :

تُعد الشفة أكثر المناطق إصابة في الفم، ولا يوجد أعراض مميّزة فهو عبارة عن سرطان شائِك الخلايا مع بؤر من انحلال الأشواك ضمن الجزر البشرويّة و قد تُشاهد خلايا مغزليّة و خلايا رائقة (Barnes et al., 2005)

6- السَرَطان شائِك الخلايا الغدي:

وهو عبارة عن تنشوء ورمي نادر ينشأ من البشرة السطحيّة و يحوي على خلايا شائِكة سرطانيّة و خلايا غديّة حقيقية سرطانيّة Adenosquamous cells . يميل للرجال في العقد السادس و

السابع و يُعتَبر التبغ و الكحول عاملان أساسيان للإصابة و تُعد الحنجرة أكثر إصابة من الحفرة الفمويّة. يكون عبارة عن كتلة ناتئة أو بوليب و نلاحظ وجود تقرّح. يتركّب نسيجيّاً من خلايا شائِكة سرطانيّة قد تكون ضمن البشرة أو ترتشح للنسيج الضام ، و خلايا غديّة سرطانيّة تُشاهد في الجزء العميق من الورم و قد تُعطي تراكيب قنيويّة . يُعتبر هذا الورم أكثر عدائيّة من السَرَطان شائِك الخلايا . سُجّلت نقائل للعقد اللمفيّة الناحية في 75% من الحالات و سُجّلت نقائل بعيدة في 25% من الحالات غالبيّتها إلى الرئة و كان معدّل النجاة هو 15–25% لخمس سنوات (Barnes et al., 2005) (Kovylina et al., 2006)

1-2: التحوّل الظهاري الميزانشيمي Epithelial to Mesenchymal Transition

1-2-1 : تعريف التحوّل الظهاري الميزانشيمي

هو عمليّة حيويّة تطوُّريّة تسمح لخليّة ظهاريّة مُستقطبة و مُرتبِطة مع الخلايا المجاورة لها و مع القالب خارج الخلوي بأنّ تَخضع لعدّة تحولات كيميائيّة حيويّة تمكّنها من الظُهور كخليّة ميزانشيميّة من حيث النمط الظاهري ، وذلك بما تحمِلُه تلك الخلايا من قُدرة كبيرة على الهجرة و الغزو والمقاومة العالية للاستِموات إضافةً إلى الإنتاج الوافِر لمكوِّنات القالب خارج الخلوي . (Kalluri and Neilson, 2003)

وكذلك يُعرّف على أنّه مجموعة الأحداث التي تُفضي إلى تحوّل الخلايا الظهاريّة المتّصلة بما حولها إلى خلايا مَعزولة مُهاجرة قادرة على الغزو إلى القالب خارج الخلوي . ويُفسِّر هذا التحوّل اكتساب الخلايا الورميّة الكامنة في الورم الأولي للقدرة على الإستعمار (Acloque et al., 2009).

1-2-2 : مفهوم التحوّل الظهاري الميزانشيمي

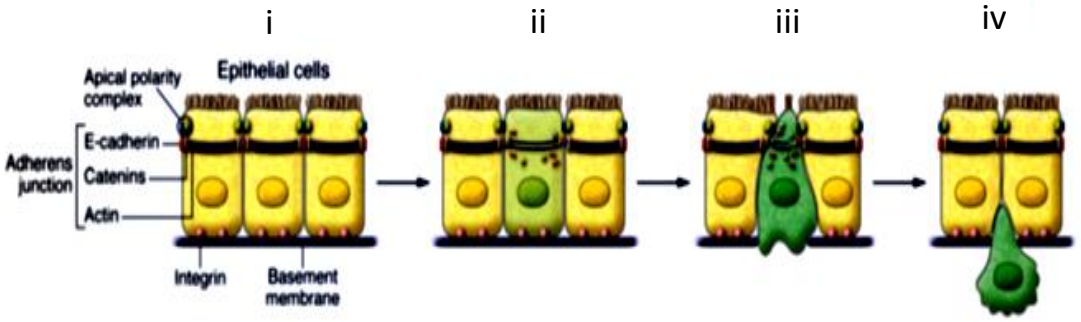
تتألف التوالي بشكل رئيسي من نمطين من الخلايا : الظهاريّة و الضامّة ، و يختلفُ هذان النمطان شكليّاً ووظيفيّاً . تكون الخلايا الظهاريّة مُترابِطة مع بعضها و تؤلف طَبقات مُتراصّة نَظراً لارتباطها الوثيق عبر مُعقّدات الربط بين الخلويّة (الموصلات المحكمة tight junctions، الموصلات الملتصقة adherens junctions ،أجسام الوصل desmosomes ،

الموصلات الفضويَّة gap junction) في أغشيتها الجانبيّة . كما تُبدي استقطاباً قاعديّاً ذرويّاً ، و تتموضع عادةً على غشاء قاعدي يفصِلها عن باقي الأنسِجة .

على النقيض تكون الخلايا الميزانشيميّة غير مستقطبة وفاقدة للروابط بين الخلويّة ، لذا فهي قادرة على الانتقال كخلايا مفردة عبر القالب خارج الخلوي (Thiery and Sleeman, 2006). يعتبر كلا النمطين عكوسين و تستطيع الخلايا خلال التطوُّر الجنيني ان تتحول بينهما .

تم وصف مفهومي التحوّل الظهاري الميزانشيميEMT ونقيضه التحوّل الميزانشيمي الظهاري MET لأول مرّة من قبل Elizabeth Hay في ستينيّات القرن الماضي عن طريق دراسة الثلم البدئي لدى الصيصان . (Hay et al., 1967) (Acloque et al., 2009)

تمر عمليّة التحوّل عبر عِدَّة خطوات يتمُّ بعضُها بشكلٍ متزامن ، فعندما تصبح الخلايا الظهاريّة مؤهّلة للاستجابة إلى إشارات التحريض فإنّ هذِه الإشارات تتولّى قيادة عمليّة تفكيك مُعقّدات الارتباط بين الخلوي و تُفقد الخليّة استقطَابَها النموذجي . تُعدّ التبدّلات على سويّة الهيكل الخلوي حاسِمة كي تُغادر الخلايا الظهارة و تبدأ بالهجرة الفردية (Moreno-Bueno et al., 2008). تَحدُث هذه التبدّلات أولاً عن طريق تشكيل التضيُّق الذروي و زوال انتظام القالب الهيكلي للخليّة (Martin et al., 2009) . يقود ماسبق بالتزامن مع نشاط البروتياز إلى تحطيم الغشاء القاعدي و عبور الخلايا إلى النسيج الضام ، شكل (1-3) (Haraguchi et al., 2008).



شكل (1–3) : المفاهيم الخلويّة للتحوّل الظهاري الميزانشيمي . **i : الخلايا الظهاريّة الطبيعيّة الحاوية على الموصلات الملتصقة المكوّنة من الـ E-cadherin المرتبط مع الكاتينينات و حلقات الأكتين . تترافق الموصلات المحكمة مع معقّدات القطبيّة الذرويّة ، في حين يتفاعل الانتغرين مع مكوّنات الغشاء القاعدي . ii : فقدان الارتباط بين الخلايا . تكبح محرّضات عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي انتساخ الجينات المرمّزة لمكوّنات كل من الموصلات الملتصقة و المحكمة ، و تؤدّي إلى فقدان القطبيّة الخلويّة . ينتقل الـ E-cadherin إلى داخل الخليّة و يصبح عندها هدفاً للتحطيم .iii : انهيار الغشاء القاعدي و التضيّق الذروي . تحدث إعادة تشكيل عميقة على مستوى الهيكل الخلوي تمنح الافضلّية للتطبّق الخلوي cell delamination عن طريق إحداث التضيُّق الذروي و اختلال انتظام الغشاء القاعدي . iv : التطبّق الخلوي و الغزو . تعطي تعبيريّة مستقبلات الانتغرين مع التفعيل المستمر للميتالوبروتياز الافضليّة للهجرة عبر القالب خارج الخلوي و الغزو إلى الأنسجة المجاورة (Acloque et al., 2009) .**

تكتمل عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي بتخرُّب الغشاء القاعدي الواقع أسفل الخليّة المتحوِّلة و من ثمّ تشكّل الخليّة الميزانشيميّة القادرة على الهجرة بعيداً عن الطبقة الظهاريّة التي نشأت عنها .

تَشتَرِكُ العديد من العملياتِ الجُزيئيّةِ المنفصِلة بهدف بَدْء عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي و تمكِينِها من الاكتِمال . تَشتَمِل هذه العمليَّات على تفعيل عوامل الانتساخ و تعبيريّة بروتينات سطحيّة معيّنة و إعادة تنظيم تعبيريّة بروتينات هيكليّة و إنتاج أنزيمات مخرِّبة للقالب خارج

الخلوي إضافةً إلى تبدّلات في تعبيريّة بعض سلاسل الـ RNA . و في العديد من الحالات يمكن أن تستخدم هذه العوامل المشاركة كواسمات حيويّة لتوضيح المسار الذي تسلكه الخليّة اثناء حدوث التحوّل الظهاري الميزانشيمي(Zeisberg and Neilson, 2009) .

1-2-3 : الحاجة إلى عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي

لقد ظهرَ مفهوم الانقسام الخلوي كطريقة لزيادة عدد الخلايا وزيادة حجم الأنسجة قبل أكثر من قرن ونيّف ، و رافق هذا المفهوم قناعة بأنّ جميع خلايا الجسم تُشتَقُ من خلايا أخرى ، ما يقودنا في نهاية المطاف إلى خليّة واحدة هي البيضة الملقّحة التي تتمَايزُ عنها كل أنسِجة الجسم .

أثناء التكوّن الجنيني تُبدِي الظهارة قُدرة عالية على التكيّف عبر تبدُّلها مراراً وتكراراً بين الحالتين الظهاريّة و الميزانشيميّة، وذلك من خلال لجوئها إلى عمليّات التحوّل الظهاري الميزانشيمي و عكسها عمليّات التحوّل الميزانشيمي الظهاري (Kalluri and Neilson, Thiery, 2002 , 2003) .

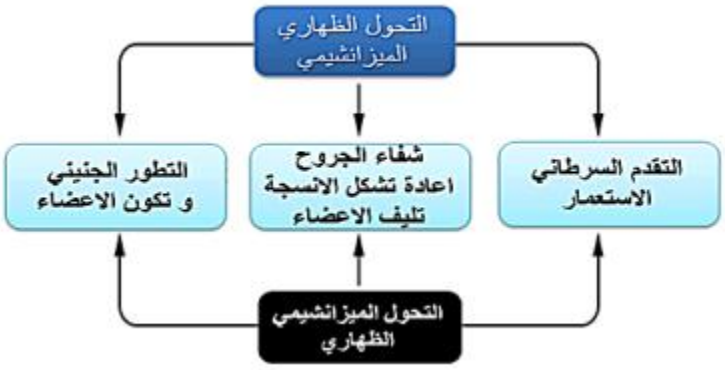
عند اكتمال تطوُّر الأنسجة الظهاريّة تقوم الخلايا الظهاريّة بوظائف محدّدة و تقوم الخلايا الميزانشيميّة بالدور الداعم . و من هنا أتى المفهومُ الراسخُ بأنّ حالة التمَايُز النهائي أساسيّة لإنجاز الوظائف المُناطة بالخليّة و أنَّ الخلايا تبقى بحالة دائمة من التمَايُز عند اكتمال تطوُّرها. وقد بُني هذا المفهوم على الحدس ودونَ أي دلائل تجريبيّة إلى أن تمَّ نقضُه من خلال العديد من المشاهدات على الخلايا الظهاريّة المتمَايُزة بشكل تام و التي استطاعت تغيير نمطها الظاهري

من خلال تفعيل برنامج التحوّل الظهاري الميزانشيمي الذي يمكّن الخليّة من التحوّل من خليّة ظهاريّة إلى ميزانشيميّة خلال عمليّة التطوُّر والنُضج إضافةً إلى حالات الترميم النسيجي و الإجهادات المرضيّة بما تشمله من التهابات وسرطانات (Boyer et al., 2000).

وهكذا فإنّه يمكننا الآن أن نصف التحوّل الظهاري الميزانشيمي بأنّه آليّة لنشر الخلايا عند الاجنّة و تشكيل الخلايا المصوِّرة للّيف الميزانشيميّة في الانسجة المتأذيّة و بدء سلوك الغزو والاستعمار في الخلايا السَرَطانيّة الظهاريّة (Kiemer et al., 2001, Xue et al., 2003) .

4-2-1 : تصنيف التحوّل الظهاري الميزانشيمي

تم تصنيف التحوّل الظهاري الميزانشيمي إلى ثلاث أنماط بيولوجيّة وذلك في المؤتمر الخاص به والذي جرى في بولندا في العام 2007 و في مختبرات كولدسبرينغ في العام 2008 (Zeisberg and Neilson, 2009) ، شكل (1-4):



شكل (1-4) : أنماط التحوّل الظهاري الميزانشيمي (Zeisberg and Neilson, 2009)

1-2-4-1 : النمط 1 : التحوّل الظهاري الميزانشيمي خلال عمليّة انغراس البويضة الملقّحة و التكوّن الجنيني و تطوُّر الأعضاء:

هو الذي تقوم فيه التحوّلات الظهاريّة الميزانشيميّة المرافِقة لعمليّة انغراس البويضة الملقّحة و التكوّن الجنيني و تطوُّر الأعضاء بخلق أنماط متعدّدة من الخلايا التي تشترك بنمط ظاهري ميزانشيمي ، و هذا النمط لا يسبّب تليّفاً و لا يستَحدِثُ نمطا ظاهريّاً غازياً يُفضي إلى انتشار جهازي عبر الدوران . يلعب التحوّل الظهاري الميزانشيمي خلال التطوُّر دوراً رئيسيّاً في توليد المجموعة الأولى من الخلايا الميزانشيميّة التي تعرف بالميزانشيم الأولي والتي تحمل امكانيّة الخضوع للعمليّة المعاكسة (التحوّل الميزانشيمي الظهاري) فيما بعد لتولّد ظهارة ثانويّة .(Ekblom, 1996)

1-2-4-2 : النمط 2 : التحوّل الظهاري الميزانشيمي المرافق لعمليات التجدّد النسيجي و تليّف الأعضاء :

تنضَوي ضِمنه التحوّلات الظهاريّة الميزانشيميّة التي تُرافِق عمليات شِفاء الجروح والتجدُّد النسيجي وتليُّف الأعضاء . وفيه يبدأ برنامج التحوّل كجزء من عمليّة الترميم ويهدف إلى توليد الخلايا الصانِعة للّيف التي تُناط بها مَهمّة إعادة البناء النسيجي بعد الإصابات الرضيّة والالتهابات . لكن وبعكس النمط1 فان هذا النمط يترافق مع العمليّة الالتهابيّة و يتوقَّف عندما يضعُف الالتهاب كما يُصادف في شفاء الجروح والترميم النسيجي . يستمر النمط2 بالحدوث في حالات تليّف الأعضاء كاستجابة للالتهاب المُستمِر ويقود إلى تخرّب العضو في نهاية المطاف.

وتُعد عمليّة التليّف التي تصيب الانسجة في جوهرها صيغة قويّة لشفاء الجروح الناجمة عن الالتهابات المعنّدة (Kalluri and Weinberg, 2009).

تجدر الإشارة إلى أنّ التجارب الحديثة على الفئران أظهرت أنَّ الخلايا البطانية المُرافِقة للجملة الوعائيّة المجهريَّة يمكن أن تشارك أيضاً في تكوين الخلايا الميزانشيميّة خلال عمليّة التليّف ، و تقوم بذلك بآليَّة مُشابهة هي عمليّة التحوّل البطاني الميزانشيمي EndMT . (Zeisberg et al., 2008)

1-2-4-3 : النمط 3 : التحوّل الظهاري الميزانشيمي المُرافق لعمليّة التسرطن و الاستعمار:

يُصيب الخلايا الورميّة التي خضعَت مُسبقاً لتغيّرات مورثيّة في الجينات المسؤولة عن الورم و المورّثات الكابِحة للورم بحيث تتضافر هذِه التغيّرات مع عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي للخروج بنتيجة مُغَايرة تماماً لتلك الحاصِلة في النمطين الأول والثاني . قد تقوم الخلايا السَرَطانيّة التي تخضع للنمط الثالث بالغزو و الاستعمار مؤدّية إلى إحداث الشكل المهدِّد للحياة الذي يميّز الورم السَرَطاني. (Kalluri and Weinberg, 2009)

من المهم ايضاً أن نعلم بأنّ الخلايا السَرَطانيّة قد تمر عبر التحوّلات الظهاريّة الميزانشيميّة ضمنَ مجالات مختلفة ، حيث تبقى بعضُ الخلايا على حالِها و بعضها الآخر يتمَايزُ عند الحاجةِ إلى خلايا ميزانشيميّة ، وهناك خلايا أُخرى تتخلّص بالكامل من أصلِها الظهاري وتتحوّل إلى ميزانشيميّة صرفة . و لازالت الإشارات المحرِّضة للنمط3 في الخلايا السَرَطانيّة غير

واضحة بالكامل . و قد تنشأ هذه الاشارات في اللّحمة الورميّة المرافقة للعديد من السَرَطانات الظهاريّة البدئيّة (Kalluri and Weinberg, 2009) .

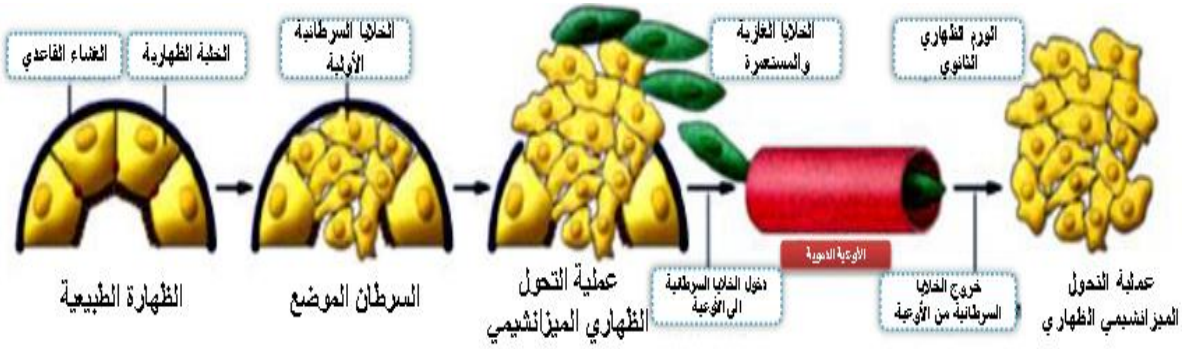
شكّلت السيطرة المورثيّة و الآليّات الكيميائيّة الحيويّة التي تشتمل على اكتساب النمط الظاهري الغازي و الانتشار الجهازي التالي للخليّة السَرَطانيّة حقلاً للكثير من الأبحاث ، افتُرض في العديد منها أنّ تفعيل برنامج التحوّل الظهاري الميزانشيمي هو آليّة رئيسيّة لاكتساب الأنماط الظاهريّة الخبيثة للخلايا السَرَطانيّة الظهاريّة (Thiery, 2002) . و قد أوضحت العديد من الدراسات التي أُجريت على الفئران و تجارب الزرع الخلوي بأنّ الخلايا السَرَطانيّة البشرويّة يمكن أن تكتسبَ نمطاً ظاهرياً ميزانشيميّاً و تُعبِّر عن واسِماتٍ ميزانشيميّة مثل αSMA،FSP1 ، و vimentin و desmin (Yang and Weinberg, 2008) . تُشاهد هذه الخلايا عادةً في المقدّمة الغازية للأورام البدئيّة ويُعتقَد بأنّها الخلايا التي سوف تدخل في النهاية إلى المراحل التالية من شلّال الغزو و الاستعمار ، أي الدخول إلى الأوعية و الانتقال من خلال الدوران ثمّ الخروج من الأوعية و تشكيل النقائل المجهريّة و في نهاية المطاف حدوث الاستعمار colonization (Fidler and Poste, 2008) .

تقوم الخلايا المهاجرة المُشتقّة عبر عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي بتأسيس مُستعمرات ثانويّة في مواقع بعيدة تشابه – على المستوى النسيجي الإمراضي – الورم الأولي الذي انبثقت عنه و وفقاً لذلك فإنها لاتعود لإبداء النمط الظاهري الميزانشيمي الذي يُنسب في العادة إلى الخلايا السَرَطانيّة المُستعمِرة . و يَنسجِم هذا السلوك مع الدور المُفترض للتحوّل الظهاري

الميزانشيمي كوسيط لعمليّة الانتشار الاستعماري إضافةً إلى كون الخلايا المُستعمِرة تعود إلى نمطها الظاهري البدئي عبر العمليّة المعاكسة التي هي التحوّل الميزانشيمي الظهاري MET خلال دورة تشكّل الورم الثانوي ، شكل (1-5) (Zeisberg et al., 2005) .

يرتبط ميل الخلايا السَرَطانيّة المُنتشرة للخضوع لعمليّة التحوّل الميزانشيمي الظهاري بطبيعة البيئة المجهريّة المحليّة التي تُلاقيها عند خروجها من الأوعية الدمويّة إلى متن (برانشيم) عضو بعيد ، حيثُ من المُمكن أن يكون ذلك ناجِماً عن غياب الإشارات التي حدَثَت في الورم الأولي و التي كانت مسؤولة عن تحريض التحوّل الظهاري الميزانشيمي في المقام الأول (Jechlinger et al., 2002) .

تُشير الاعتبارات السابِقة إلى أنَّ تحريض حدوث عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي هو آليّة مركزيّة هامّة في تقدُّم السَرَطانات البشرويّة إلى المرحلة الاستعماريّة . لكن العديد من الخطوات في هذا النموذج الميكانيكي للتحوّل لاتزال بحاجة إلى اختبارات توثيقيّة مُباشِرة ، ويبقى من غير الواضح حاليّاً فيما إذا كانت هذه الظاهرة و آليّاتها الجزيئيّة قادرة على تفسير الانتشار الاستعماري للخلايا السَرَطانيّة غير الظهاريّة . كما يبقى الطيفُ الكاملُ من العوامل الإشاريّة signaling agents التي تشارك في عمليّات التحوّل الظهاري الميزانشيمي للخلايا السَرَطانيّة غير واضِحٍ حتَّى الآن (Weinberg, 2008).



شكل (1–5) دور التحوّل الظهاري الميزانشيمي في العمليّة السَرَطانيّة . (Kalluri and Weinberg, 2009)

1–2–5 : واسمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي

تمّ اللجوء إلى العديد من الواسِمات لإيضاح الأنماط الثلاثة من التحوّل الظهاري الميزانشيمي . وهنا سنذكر مجموعة من أكثرِها شيوعاً ، حيث تَكتسِبُ الخليّة بعضَ الواسِمات و تفقِد بَعضها خلال التحوّل جدول (1–3) . تَزداد هذهِ الواسِمات مع اكتشاف المزيد من العوامل التي تُحرِّض التحوّل الظهاري الميزانشيمي مثل عوامل النمو و مكوّنات القالب خارج الخلوي و البروتياز و نقص الأكسجة (Du et al., 2014). و رغم الطبيعة المنفردة الخاصّة لكل من هذه المحرِّضات المعروفة إلّا أنَّ استجابَة التحوّل تجاهها هي نفسُها تقريباً . وهذا يُوجِّه الإهتمام نحو البحث عن المفاتيح المُمكِنة للتحوّل و التي تتقاطَعُ عندها سُبل الإشارات المُختلفة أو تتحكم بالاستجابة التحوّلية .

يمكن أن تكون هذه الواسِمات عبارة عن بروتينات من سطح الخليّة أو القالَب خارج الخلوي أو بَعضاً من عناصِر الهيكل الخلوي أو عوامل انتساخ داخل خلويّة أو microRNAs .

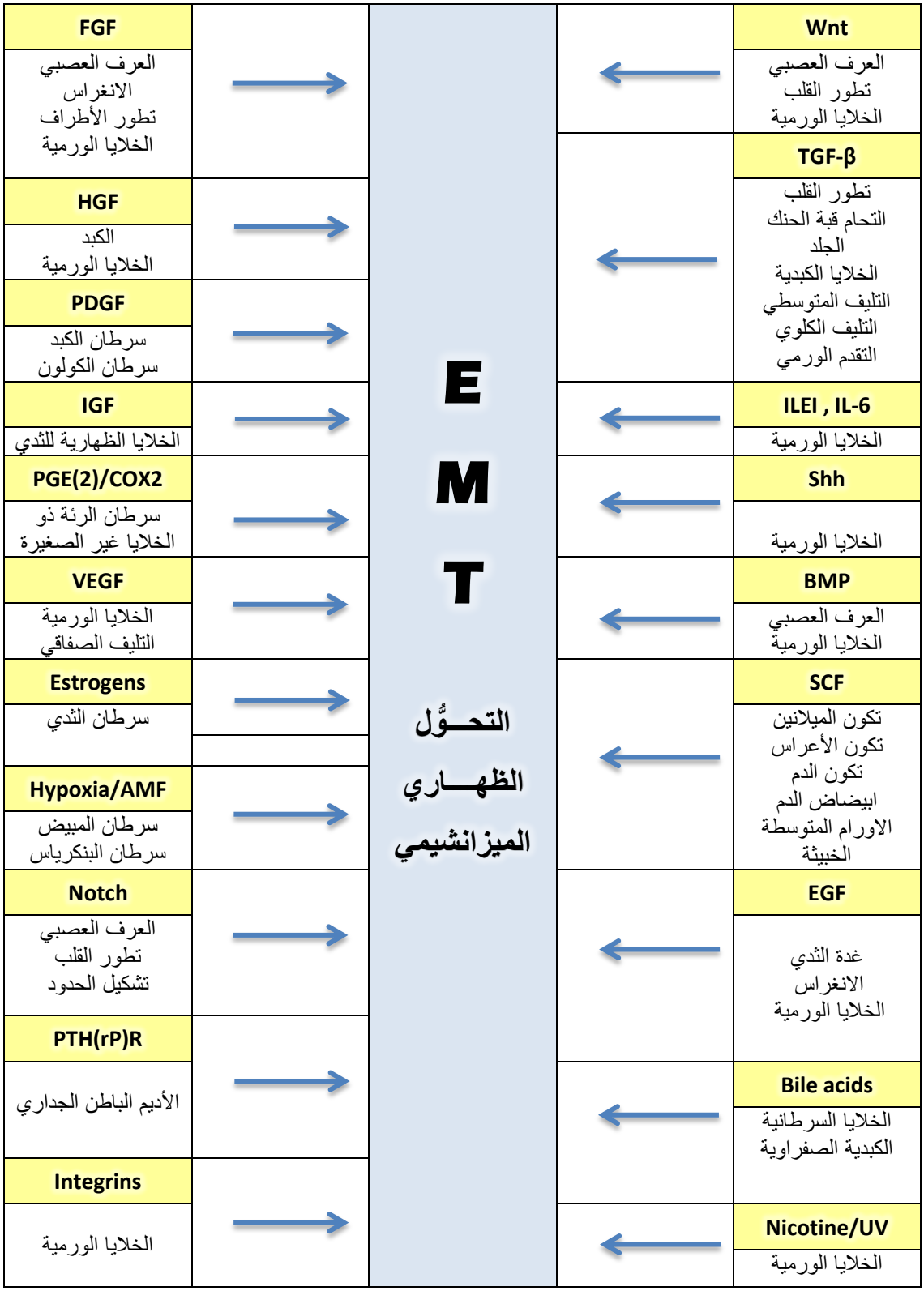
واسمات تكتسب		واسمات تضعف	
اسم الواسم	نمط التحوّل	اسم الواسم	نمط التحوّل
1: بروتينات سطح الخليّة			
N-cadherin	1.2	E-cadherin	1.2.3
OB-cadherin	3	ZO-1	1.2.3
α5β1 integrin	1.3		
αVβ6 integrin	1.3		
Syndecan-1	1.3		
2: واسمات الهيكل الخلوي			
FSP1	1.2.3	Cytokeratin	1.2.3
α-SMA	2.3		
Vimentin	1.2		
β-Catenin	1.2.3		
3: بروتينات القالب خارج الخلوي			
α1(I) collagen	1.3	α1(IV) collagen	1.2.3
α1(III) collagen	1.3	Laminin 1	1.2.3
Fibronectin	1.2		
Laminin 5	1.2		
4: عوامل الانتساخ			
Snail1 (Snail)	1.2.3		
Snail2 (Slug)	1.2.3		
ZEB1	1.2.3		
CBF-A/KAP-1 complex	2.3		
Twist	1.2.3		
LEF-1	1.2.3		
Ets-1	1.2.3		
FOXC2	1.2		
Goosecoid	1.2		

MicroRNAs :5			
2	Mir-200 family	2	miR10b
		2.3	miR-21

جدول (1-3) : واسِمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي (Zeisberg and Neilson, 2009) .

6-2-1 : مُحرِّضات التحوُّل الظهاري الميزانشيمي

هُناك طيف واسع من سبل الاشارات و العوامِل التي تقوم بتحريض التحوّل الظهاري الميزانشيمي في العديد من المجمّعات الخلويّة ، سواء أثناء التطوُّر الجنيني أو خلال الإمراضيّات التي تُصيب الإنسان . يظهر الشكل (1-6) النسج المستهدفة و العمليّة الحيويّة المحرضة للتحوّل . يُعادُ تنظيمُ تعبيريّة العديد من هذه العوامل في المرحلةِ التاليةِ للتحوّل من خلال إعادة تموضعها ضمنَ الخليّة أو تخريبها من قبل البروتياسومات .



الشكل (1-6) العوامل وسبل الانتساخ المحرّضة للتحوّل الظهاري الميزانشيمي (Thiery et al., 2009).

1-3 : الارتباط الخلوي Cell junction:

تكتسب جميع الأنسجة بنيتها وتماسكها من خلال ارتباط خلاياها مع بعضها البعض ومع القالب خارج الخلوي عبر وصلات متخصّصة تتواجد بوفرة في الظهارات . تُشاهد هذه الوصلات من خلال المجهر الإلكتروني التقليدي أو ذو المقاطع المجمّدة المشطورة ، حيث تبدو الأغشية الخلويّة المتداخلة عالية التخصّص في هذه المواقع .

يمكن تصنيف الروابط الخلويّة في ثلاث مجموعات وظيفيّة كما في الجدول (1-4) .

الموصِلات المُسِدّة OCCLUDING JUNCTIONS	1. الوصلات المحكمة Tight junction : عند الفقاريات فقط
	2. الوصلات المحوجَزة septate junctions: عند اللافقاريات غالباً
الموصلات الإرسائية ANCHORING JUNCTIONS	I : تحوي مواقع ارتباط مع خيوط الأكتين
	1. موصلات خليّة-خليّة : الموصلات الملتصقة adherens junctions
	2. موصلات خليّة قالب : الموصلات البؤريّة focal adhesions
	II : تحوي مواقع ارتباط مع الخيوط المتوسّطة
	1. موصلات خليّة-خليّة : جسيمات الوصل desmosomes
	2. موصلات خليّة –قالب : انصاف جسيمات الوصل hemidesmosomes
موصلات الإتصال COMMUNICATING JUNCTIONS	1. الموصلات الفضويّة gap junctions
	2. المشابك الكيميائيّة chemical synapses
	3. الرابطات الهيوليّة plasmodesmata: في النباتات فقط

جدول (1-4) : التصنيف الوظيفي للموصلات الخلويّة (Alberts B, 2002)

تقوم الموصِلات المُسدّة بالختم بين الخلايا في الظهارات بحيث تمنع تسرُّب أصغر الجزيئات ، أما الموصلات الإرسائيّة فتقوم بالربط الميكانيكي بين الخلايا المتجاورة بعضُها ببعض و مع القالب خارج الخلوي ، أما موصِلات الاتصال فهي تتواسط مرور الإشارات الكيميائيّة أو الكهربائيّة بين خليّتين متجاورتين(Alberts B, 2002) .

1-3-1 : موصلات الإرساء

تقوم هذه البروتينات بربط الهيكل الخلوي للخليّة مع مجاوراتِها أو مع القالب خارج الخلوي ، حيث أن الطبقة الببتيديَّة المزدوجة المشكِّلة للغشاء الخلوي رقيقة و لا تستطيعُ بمُفردِها أن تنقل القوى الكبيرة من خليّة إلى أخرى أو إلى القالب خارج الخلوي ، وهنا يأتي دور مُوصِلات الإرساء التي تُشكّل بُنى متينة تمتد عبر الغشاء لترتبط داخل الخليّة مع خيوطات الهيكل الخلوي. تنتشرُ هذِه الموصلات على نطاق واسع في الأنسجة الحيوانية ، لكنَّها تَغزُر في الأنسجة الخاضِعة لجهود ميكانيكيّة عالية كالقلب و العضلات و البشرات .

تتألّف هذهِ الموصِلات من صنفين رئيسيين من البروتينات هي :

1- بروتينات الإرساء داخل الخلويّة : عبارة عن لويحة بارِزة على الوجه الهيولي للغشاء الخلوي ، تقوم بربط معقّد الارتباط إلى خيوط الأكتين أو الخيوط المتوسِّطة .

2- بروتينات الارتباط عبر الغشائيّة : تملك ذيلاً هيوليّاً يرتبِط إلى واحد أو أكثر من بروتينات الإرساء داخل الخلوي ، و نطاقاً خارج الخليّة يتفاعل إمّا مع القالب خارج الخلوي أو مع النِطاق خارج الخلوي لبروتين مماثل في خليّة مجاورة (Alberts B, 2002).

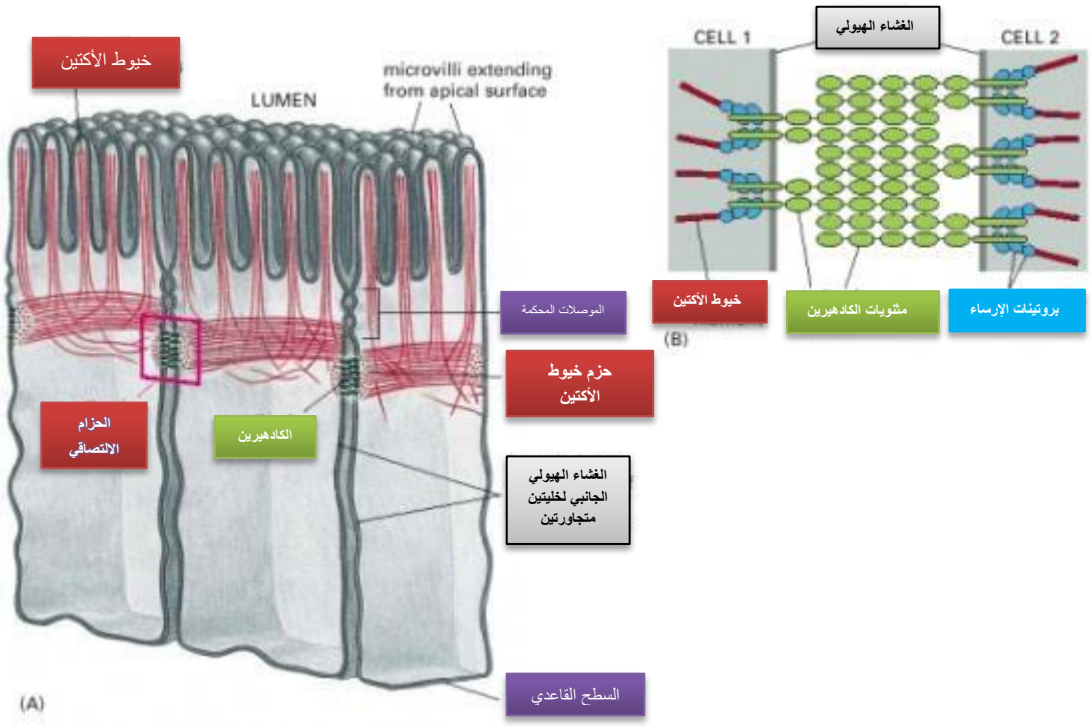
كما يتمُّ الارتباط بشكلين وظيفيّين مختلفين : في الأوّل تقوم الموصلات الملتصقة و جسيمات الوصل بربط الخلايا مع بعضها وهذا يحدث عبر بروتينات ارتباطيّة عبر غشائيّة تنتمي إلى

عائلة الكادهيرينات . وفي الثاني ترتبط الخلايا عبر الارتباط البؤري وأنصاف جسيمات الوصل مع القالب خارج الخلوي عبر بروتينات عبر غشائيّة تنتمي إلى عائلة الإنتغرينات .

1-3-2 : الموصلات الملتصقة

تقوم بالربط غير المباشر بين حزم خيوط الأكتين القشريّة المتوضّعة تحت الغشاء الخلوي لخليّتين متجاورتين. تأخذ عدّة أشكال في الأنسجة غير الظهاريّة ، فقد تبدو على شكل نقاط صغيرة أو مُلحقات متلّمة . تُشاهَد النماذِج المِثاليّة من الموصلات الملتصقة في الظهارات ، حيث تشكّل عادةً أحزمةً التصاقية مستمرّة (النُطيقة الملتصقة Zonul adherens) إلى الأسفل مباشرةً من الموصلات المُحكمة . ترتبط الأحزمة الالتصاقيّة المتجاورة بواسطة الكادهيرينات ، التي تقوم هنا بدور البروتينات الرابطة عبر الغشائيّة .

يوجد في كل خليّة حزم من خيوط الأكتين متوضّعة بجواز حزام الارتباط وتتَّجه بشكل موازي للغشاء الهيولي . يتّصل الأكتين مع الغشاء الخلوي عبر مجموعة من بروتينات الإرساء داخل الخلويّة تشمل catenins و vinculin و α-catenin . بذلك ترتبط حزم الأكتين في الخلايا المتجاورة عبر الكادهيرينات و بروتينات الإرساء مشكلة شبكة عبر خلويّة كما في الشكل (Alberts B, 2002) شكل (1-7) .



الشكل (1-7) بنية الموصلات الملتصقة (Alberts B, 2002)

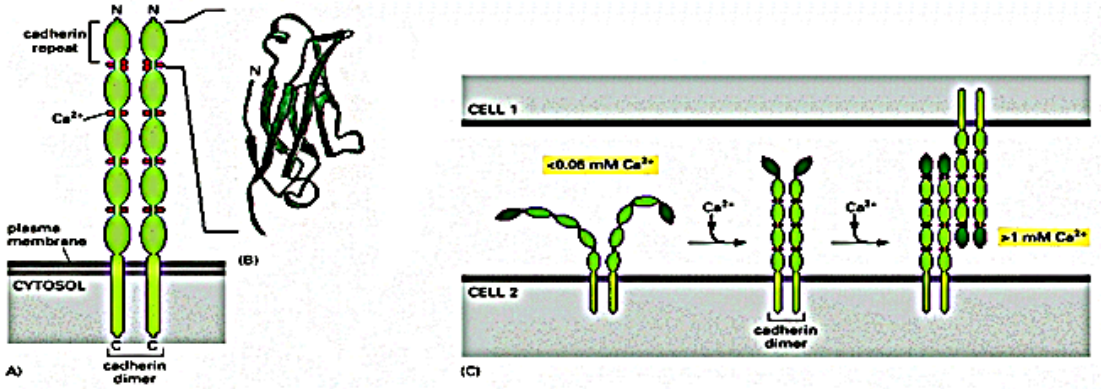
1-4 : معقّد E-cadherin/catenin

هو مُعقّد بروتيني يلعبُ دوراً أساسيّاً في الارتباط الخلوي و تطرأ عليه تغيّرات في إطار عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي وفي سياق العمليّات الورميّة، و لإيضاح دور هذا المعقّد من الضروري ان نتآلف مع العناصر المكوّنة له و آليّات عملها .

1-4-1 : بروتين الـ E-cadherin

ويعرف ايضا بـ CAM 120/80 أو uvomorulin ، هو بروتين سكّري عبر غشائي يَعتَمد على شوارد الكالسيوم ، كتلته الجزيئيّة kDa120 . يتألّف من طليعتين كل منهما kDa 135 ، تخضعان بدورهما لعمليّة تشذيب trimming في الهيولى لتكونا الجزيئ الناضج الذي ينتقل

بعدها نحو السطح الجانبي للخلايا الظهاريّة ، حيث يقوم بالتموضع إلى الإتصالات المتخصّصة لنمط النُّطَيقَةُ المُلْتَصِقَة zonula adherens type (Lewis et al., 1994) . تم التعرّف على المورثة CDH1 التي ترمز E-cadherin عند البشر و معرفة خصائصها . وقد وُجِد أنَّها متوضعة على الصبغي 16q22.1 (Gall and Frampton, 2013) .



شكل (1-8) بنية و وظيفة E-cadherin

A : جزيء E-cadherin كلاسيكي . هو عبارة عن بروتين مثنوي homodimer ، له جزء خارج خلوي على كُل من جزأيه ينثني البولي ببتيد إلى خمسة تكرارات كادهيرينية . هناك مواقع ربط لشوارد الكالسيوم بين كل زوج من التكرارات . B : البنية البلوريّة لتكرار مفرد من الكادهيرين، يشبه نطاق الغلوبولين المناعي Ig . C: تأثير شوارد الكالسيوم خارج الخلويّة . عند زيادة كميّة شوارد الكالسيوم ، تصبح الاجزاء خارج الخلويّة من حلقات الكادهيرين أكثر صلابة . وعند ارتباط كمية كافية من شوارد الكالسيوم يتمدّد مثنوي الكادهيرين من السطح حيث يستطيع الارتباط إلى مثنوي كادهيرين آخر في خليّة مجاورة . عند زوال شوارد الكالسيوم فان الجزء خارج الخلوي من البروتين يصبح ليّنا و يتهدّم بفعل الانزيمات الحالة للبروتينات (Neganova et al., 2000) .

يُعد ارتباط جزيء E-cadherin عبر الغشائي مع أكتين الهيكل الخلوي أساسيّاً للحصول على ارتباط قوي خليّة إلى خليّة وهذا الارتباط تتواسَطه الكاتينينات .

1-4-2 : بروتين β-catenin

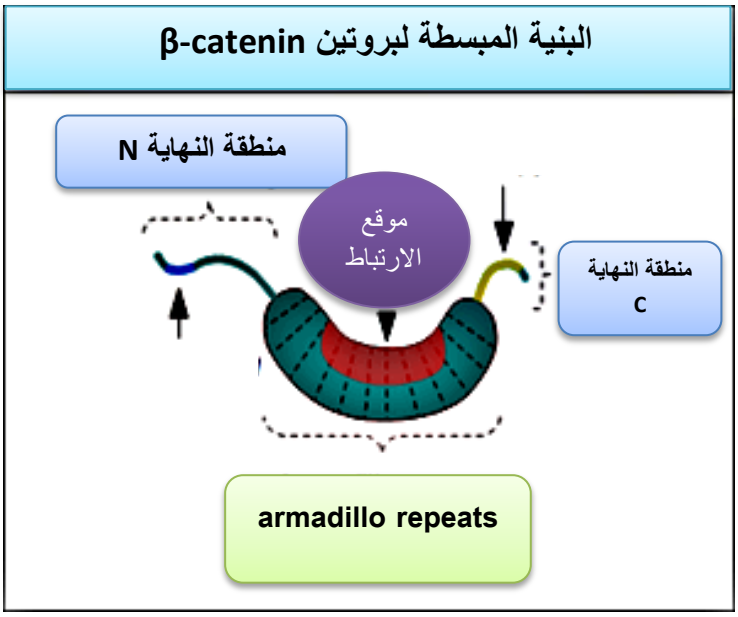
هو بروتين مزدوج الوظيفة له دور في ضبط الارتباط بين الخلايا وفي انتساخ المورِّثات . يُرمز عند البشر بالمورّثة CTNNB1 (MacDonald et al., 2009) ، وهو ينتمي إلى عائلة الكاتينينات التي تتألّف من ثلاثة أفراد هي : α-catenin (102 kDa) و β-catenin (92 kDa) و γ-catenin (83 kDa) (Knudsen and Wheelock, 1992). و قد تمَّ تحديد مواقع مورّثات أنماط الكاتينين الثلاث لدى البشر ، حيث يتوضع α-catenin على الصبغي 5q31 و β-catenin على الصبغي 3p21 و plakoglobin/γ-catenin على الصبغي 17q21 (Aberle et al., 1995) .

تم اكتشاف بروتين β-catenin في أوائِل التسعينات من القرن الماضي كعضو من معقّد الارتباط الخلوي لدى الثديّات ، و كبروتين مسؤول عن الإرساء الهيولي للكادهيرينات (McCrea et al., 1991) ، لكن بعد فترة وجيزة تم التعرُّف على دورِه في تفعيل عوامِل الانتساخ (Kemler, 1993) ، وهكذا أصبح هذا البروتين أحد أوّل الأمثلة على البروتينات التي تجمع بين وظيفتين moonlighting protines : وهي بروتينات تقدِّم أكثر من وظيفة خلويّة مختلفة .

تُشابه البنية الفراغيّة لـ β-catenin حيوان المدرَّع armadillo ، ويتألّف لُب البروتين من العديد الأحماض الأمينيّة المتكرّرة تصِل لقرابة الـ 40 حمض أميني ويُصطلح تسميتها armadillo repeats . نظراً للشكل المعقَّد للتكرار المُفرد فإن شكل البروتين ليس مستقيماً

تماماً إذ أنّه يملك انحناءً خفيفاً ، بحيث يتشكّل سطحاه : الخارجي المحدّب و الداخلي المقعّر . يقوم السطح الداخلي بدور الربيطة لمختلف الشركاء المتفاعلين مع البروتين .

القطعتان الطرفيّتان N و C لا تشكّلان أي بنية مُحدّدة بذاتها، لكنّهما تلعبان دوراً حاسماً في وظائف الـ β–catenin (Huber and Weis, 2001) . وتَفتَرض العديد من الأبحاث أنَّهما تقومان بزيادَة النوعيّة في التفَاعُلات بين البروتين و البروتينات الأخرى (Xing et al., 2008) .

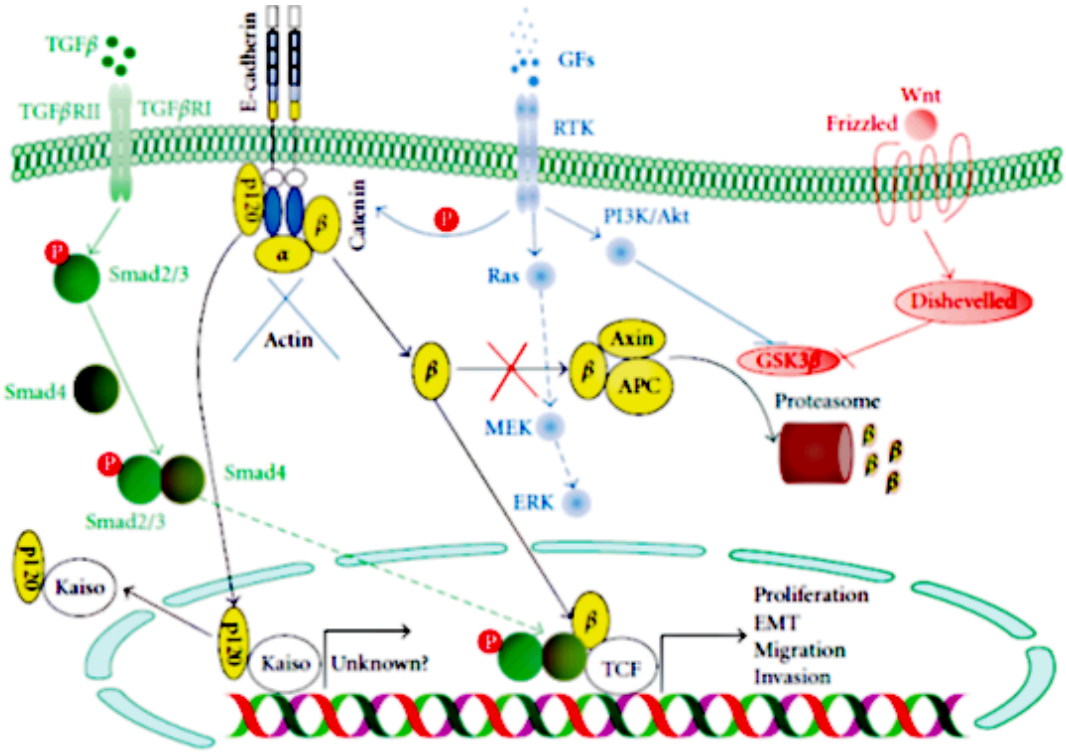


شكل (1–9) : بنية بروتين β–catenin بشكل مبسط (Huber and Weis, 2001)

1–4–3: دور معقّد E-cadherin/catenin في العمليّة الورميّة

يؤدي الفقد الوظيفي للـ E–cadherin إلى تمزّق الموصلات الملتصقة وفقدان الخليّة لاستقطابها ، و هنا يأتي دور بروتين β–catenin ذو الوظيفة المزدوجة ، حيث أنّه يقوم بدور أساسي

في ارتباط الموصلات الملتصقة داخل الخليّة مع خُيَيطات الأكتين داخل الخلوية ، كما يلعب دوراً رئيسيّاً في سبيل اشارات Wnt حيث انه سوف يَتحرَّر و يتراكم في الهيولى . في الظروف الطبيعيّة يتفَسفَر β–catenin الحر بسرعة عن طريق GSK3β (الغليكوجين سينثيثاز كيناز) في المعقّد الحاوي على بروتين داء السلائل القولوني الورمي الغدي (APC)/axin/GSK3β و يتحطَّم لاحقاً في البروتيوزومات (Clevers, 2006) . لكن وُجِد بشكل شائع في العديد من الحالات السَرَطانيّة أنّ الكابح الورمي APC لم يكن وظيفيّاً أو أنّ نشاط GSK3β كان مُنخفِضاً بسبب تفعيل سبيل اشارات Wnt ، فتواجَدت كميّة كبيرة من β–catenin في الهيولى تمكّنت بدورها من الهجرة إلى النواة ، حيث تعمل كعامل مساعد لعامل الإنتساخ الورمي TCF وتعطيه القدرة الانتساخيّة بالتناغم مع عاملي الانتساخ SMAD2,3 المفعَّلين بفعل نشاط إشارات TGF–β(Nawshad et al., 2005) . يؤدّي هذا الارتباط إلى زيادة تعبيريّة عدد من الجينات والعناصِر المُستهدَفة التي تحتاجها عمليّة التكاثر الورمي و الهجرة و الغزو إضافةً إلى عمليّة التحوّل ، مثل c–Myc، cyclin D1،D2 ، Slug ، matrilysin ، Vimentin ، fibronectin (Polakis, 2007) . و قد لوحظت هذه الحركة المكوكية للβ–catenin من الغشاء السيتوبلاسمي إلى النواة في العديد من الأورام الظهارية و النسائل الخلويّة السَرَطانيّة ، ما يُشير إلى كون β–catenin يلعب دوراً جوهريّاً في العمليّات الورميّة .



شكل (1–10) الدور الرئيسي للE–cadherin و β–catenin و وعامل النمو المتحوّل β و سبل اشارات Wnt في برنامج التحوّل الظهاري الميزانشيمي

إنَّ عَوز الـ E–cadherin يؤدّي إلى فُقدان الموصلات الملتصقة ما يؤدي إلى إشارات بين خلويّة معتلّة ، لكنّه لا يقود إلى تحوُّل ورمي مباشر (Lu et al., 2003) ، كما يُلاحظ فقد أو نقص تعبيريّة E–cadherin بشكل متكرِّر في السَرَطانات المتقدِّمة ضعيفة التمَايُز (Guilford et al., 1998) .

تمّ توثيق نَقص أو فُقدان تعبيريّة E–cadherin في عدد كبير من الأورام و في مختلف الأعضاء مثل الكولون و المعدة و البنكرياس و المري و الكبد و الرئة و المثانة و البروستات و

الثدي و الرحم و المبيض و الدرق و الجلد و الحفرة الفمويّة (Andrews et al., 1997) .
ويبدو أن درجة التمَايُز الورمي ترتبط بنسبة تعبيريّة E-cadherin و التي قد تكون عائدة إلى نقص أو عيب في الكاتينينات (Kawanishi et al., 1995) .

قد تؤدّي الطفرات على المورّثات المرمّزة للجزيئات إلى انحرافات وظيفيّة و بنيويّة تؤدّي إلى نقص في ارتباط الخليّة . و من النادرِ أن تحدث طفرة على المورِّثة المرمزة للـ E-cadherin . ففي سرطان المعدة المنتشر قد يحدث قفز في الإكسون 8 أو 9 أو خبن deletion في الإكسون 10 ، وتحدث الطفرات النقطيّة في الإكسون 7 (في سرطان الثدي العدواني) و 12 و 13 (في سرطان بطانة الرحم) و 16 (في سرطانة المبيض) (Risinger et al., 1994)، و تؤثّر هذه الطفرات في الغالب على النطاق خارج الخلوي للE-cadherin .

لوحظ إعادة انتشار لتعبيريّة E-cadherin في بعض السَرَطانات وقد كان التلوّن متغيّراً و نقطيّاً في أماكن انتشاره ، أو أنَّه تموضَع في مواقع شاذّة على طول الغشاء (Bongiorno et al., 1995) . كما لوحظت التعبيريّة الهيوليَّة في سرطانات الدرق و الثدي و بعض السَرَطانات الشائِكة (Rasbridge et al., 1993) .

تمَّت الاشارة إلى حالة تساقُط E-cadherin من على سطح الخليّة مع ماينتج عنه من E-cadherin منحل في البول . و لوحظت هذه الحالة في سرطان المثانة (Banks et al.، 1995) .

في كل الحالات السابقة لوحِظَ بأنَّ الأورام البدئيَّة تُظهِرُ نَقصَاً في تعبيريّة E-cadherin .

تتباين مستويات تعبيريّة الـ E–cadherin بشكلٍ دراماتيكي في الأورام الإنسانيّة المُختلِفة و قد وثّقَت علاقة عكسية بين مستويات E–cadherin و معدّل البقاء عند الإنسان (Hirohashi, 1998) . وفي هذا السياق تؤدّي الطفرات على مورِّثة E–cadherin التي وجدت في الخلايا السَرَطانيّة إلى جعلها أكثر عُرضة للتحوّل الظهاري الميزانشيمي و الاستعمار (Muta et al., 1996) .

إنّ احتجاز β–catenin تحت الغشاء الهيولي ضروري للحفاظ على السمات الظهاريّة للخليّة السَرَطانيّة ، و يرتبط اكتساب النمط الظاهري الميزانشيمي مع حركة الـ β–catenin إلى النواة حيث يصبح جزأً من معقد Tcf/LEF (Stockinger et al., 2001) . يرتَبط تراكُم β–catenin في النواة والذي يترافق غالباً مع فقدان تعبيريّة E–cadherin مع الاستعداد للدخول في عمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي و اكتساب النمط الظاهري الغازي (Thiery, 2002 , Kim et al., 2002). وهكذا فإن الخلايا التي تَفقِد الـ E–cadherin من على سطحها الخلوي تُصبح أكثر استِجابَة لمحرِّضات التحوّل الظهاري الميزانشيمي (Kim،2002) .

الباب الثاني : مَواد وطَرائِق البَحث

Materials and Methods

2-1- العيّنة:

تم إجراء دراسة استعاديّة Retrospective cohort study لعيّنة البحث المؤلّفة من :

1- 33 خزعة سرطانيّة محفوظة في قوالب من شمع البارافين تمّ الحصول عليها من أرشيف قسم النسج والتشريح المرضي في كليّة طب الأسنان في جامعة دمشق بين أعوام 2007-2012 ، وذلك بعد أن حَظي بروتوكول الدراسة بالموافقة الأخلاقيّة و القانونيّة . وكانت الخزعات مأخوذةً من الكتلة الورميّة البدئيّة لمرضى لم يخضَعوا إلى مُعالجة شُعاعيّة أو كيميائيّة سابقة . تمَّ أخذ ثلاث مقاطع من كُل خزعة لتلوينها بالملونين المناعيين و الهيماتوكسيلين – ايوزين ، و تمَّ تقسيم العيّنة إلى ثلاث مجموعات وفقاً للدرجة النسيجيّة بعد أن استبعدت الخزعات سيئة الحفظ ، شكل (2-1).

2- 5 خزعات من نسج فمويّة سليمة أُخِذَت حديثاً من المُخاطيّة المغطيّة للأرحاء الثالثِة خلال قلع الأرحاء المُنطمِرة ، من مشفى جراحة الفم والفكين في كليّة طب الأسنان –جامعة دمشق وثُبّتت بالفورمالين 10% ، شكل (2-2).

شكل (2-1) الخزعات المحفوظة بشمع البرافين

شكل (2-2) العيّنة الشاهدة محفوظة بالفورمالين

2-2: مواد البحث

1- الفورمالين 10%

2- الكحول والاكزيلول ، شكل (2-3) ، شكل (2-4)

3- شمع البرافين

4 - ملوّنات الهيماتوكسيلين والايوزين التقليديّة ، شكل (2-5) .

5 - بلسم كندا

6 - مواد الملوّنات المناعية:

- ضد فأري وحيد النسيلة لـ β-catenin من شركة Bio SB الأمريكية، وهو عبارة عن واسِم غشائي ، شكل (2-8).
- ضد أرنبي وحيد النسيلة لـ E-cadherin من شركة Dako الدانمارك، وهو عبارة عن واسِم غشائي ، شكل (2-7) .
- مجموعة التلوين المناعي المفرد من شركة Dako و BIO-sb :

Dako Real EnVision Detection System، Peroxidase/DAB Rabbit/ Mouse code k5007 وهي تضم أيضاً HRP rabbit/ mouse – DAB chromogen – substrate buffer ، شكل (2-9) ، شكل (2-10) .

- محلول استرجاع المستضد Antigen retrieval ، شكل (2-12) .
- المحلول الدارئ ، شكل (2-11) .

7- الشرائح الزجاجيّة العاديَّة والخاصَّة بالتلوين المناعي ، شكل (2-6) .

8- السواتر

شكل (2-4) الكحول

شكل (2-3) الكزيلول

شكل(2-6) الشرائح الزجاجية والسواتر

شكل (2-5) الملوّنات التقليدية الهيماتوكسيلين والايوزين

شكل(2-7) ضد وحيد النسيلة لـ E-cadherin

شكل (2-8) ضد وحيد النسيلة لـ β-catenin

شكل(2-9) الكيت المناعي المفرد منDako

شكل(2-10)الكيت المناعي المفرد من Bio-SB

شكل(2-11) ظروف المحلول الدرائ منDako

شكل(2-12) محلول استرجاع المستضد Dako

2-3: الأجهزة المُستخدمة:

1- المِبشَرة النسيجيّة (microtome) نوع leica –ألمانيا، شكل (2-13) .

2- المِحمّ المائي ، شكل (2-14) .

3- سخّان نوع Leica– ألمانيا ، شكل (2-15) .

4- المايكرويف ، شكل (2-16) .

5- قلم التحديد من شركة Dako ، شكل (2-19) .

6- الممص pipette ، شكل (2-18) .

7- المجهر الضوئي نوع Nikon OLYMPUS-CX21 –اليابان ، شكل (2-17) .

شكل (2-13) المبشَرة النسيجيّة

شكل (2-14) المحمّ المائي

شكل(2–15) السخّان

شكل (2–16) المايكرويف

شكل (2–17) المجهر الضوئي

شكل (2–18) الممص

شكل (2–19) قلم التحديد

2-4: طريقة العمل

2-4-1: تحضير العينات النسيجيّة:

يمر تحضير العينات، بعدد من المراحل كي تكون جاهزة لإجراء التلوين التقليدي والمناعي :

1- مرحلة التثبيت :

بعد استئصال العيّنة الشاهدة تم وضعها في الفورمول الممدد 10% لمدة 24 ساعة وذلك لتثبيت العيّنة ومنع التحلّل الذاتي للأنسجة.

2- مرحلة التجفيف :

هدفها إزالة الماء من العيّنة واستخدم لذلك ثلاثة حمّامات من الكحول يزداد تركيزها تدريجياً:

- الحمام الأول ذو تركيز 70% وتوضع العيّنة فيه لمدة ساعة
- الحمام الثاني ذو تركيز 85% كذلك لمدة ساعة
- الحمام الثالث ويحوي الكحول المطلق وتوضع فيه العيّنة لمدة ساعة

3- مرحلة التشفيف :

هي مرحلة هامّة لطرد الكحول من العيّنة وجعلها شافّة وقد استخدم لذلك ثلاث حمامات من الكزيلول وضعت العيّنة في كل منها لمدّة ساعة

4 – مرحلة إدماج شمع البارافين :

حيث توضع العيّنة في حمام من البارافين المنصهر بدرجة حرارة 55 درجة مئويّة لمدّة (1 –2) ساعة ثمّ توضع ضمن قالب ويُصبّ شمع البارافين فوقها، بحيث نتأكّد من توجيه العيّنة بشكل مناسب ، يترك القالب ليبرد ويتصلّب وعندها يصبح جاهزاً للقطع حيث تحفظ القوالب في البرّاد .

بذلك تكون العيّنات جميعها (الشاهدة والمرضيّة) ضمن قوالب شمعيّة وجاهزة لإجراء التلوين (الهيماتوكسيلين – ايوزين) والتلوين المناعي.

2-4-2: طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين – ايوزين :

1– يُثبّت المكعّب الشمعي على المِبشرة النسيجيّة Microtome (LEICA RM . المانيا) وتُحدّد سماكة المقطع ب 4 ميكرونات.

2– تُفرش هذه المقاطع البارافينيّة في مِحم مائي (LEICA . المانيا) يحتوي ماءً مقطراً بدرجة حرارة حوالي 40 – 45 درجة مئويّة لإزالة التجاعيد وتحميلها على الشرائح الزجاجية

3– توضع الشرائح الزجاجية في فرن التجفيف (Nicht drehen . المانيا) بدرجة حرارة 45 – 50 درجة مئويّة لتجفيفها من الماء لمدّة 10 دقائق

4– ثمّ تُمرر الشرائح في 3 حمامات من الكزيلول ، حوالي 15 دقيقة لكلّ حمّام ، لإزالة شمع البارافين

5- ثمّ التمرير في الكحول المطلق ثمّ كحول بنسبة 95% يليها 70% ثمّ 50% لمدّة 15 دقيقة لكل حمّام لتتم إزالة الكزيلول

6- تُغسل الشرائح بالماء وتُوضع في الهيماتوكسيلين لدقيقتين ثمّ تغسل بالماء عدّة مرّات لإزالة الهيماتوكسيلين الزائد

7- تُوضع بعد ذلك في الإيوزين لمدّة تتراوح بين دقيقة ودقيقة ونصف وتغسل بالماء لإزالة الايوزين الزائد

8- توضع في حمّام كحول 70% لمدة دقيقة ثمّ 95% لمدّة دقيقة ثمّ في حمّامين من الكحول المطلق كل حمّام دقيقة واحدة ليتم طرد الماء من النسيج

9- تجفّف العيّنة وتوضع في الكزيلول لمرّتين متتاليتين لمدة 3 دقائق في كل مرّة لطرد الكحول

10- أخيرا تُستَر السلايدات الزجاجيّة بالسواتر باستخدام بلسم كندا لتصبح جاهزة للفحص النسيجي .

2-4-3: طريقة التلوين المناعي:

1- إزالة شمع البارافين / إعادة الاماهة :

بعد التقطيع بالمبشرة النسيجيّة تُسخَّن السلايدات في فرن بدرجة حرارة 58 درجة مئويّة لمدّة ساعتين .

ثمّ تُمرّر السلايدات في سلسلة من الحمّامات تتضمّن حمّامين من الكزيلول (3–5 دقائق لكلٍ منهما) ليتبع بثلاث حمّامات من الكحول تبدأ بالكحول المطلق ثمّ الكحول 95% ومن ثمّ 70% (3 دقائق لكل حمام) بعدها تُغسل السلايدات بالماء الجاري بلطف.

2– عمليّة استرجاع المُستضد :

تحضير محلول استرجاع المستضد : تمّ تحضيره حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بتمديده بالماء المقطَّر بنسبة (100/1) وقد تمّ هذا التحضير لكل من Citrate Buffer/EDTA Buffer ، حيث وُضعت السلايدات ضمن وعاء يحوي كميّة كافية من محلول استرجاع المُستضد وغُمرت السلايدات بشكلٍ كامل.

وُضع الوعاء في الميكروويف لمدة 15 دقيقة (حوالي 10 دقائق بعد الغليان) ثمّ تُرك بعدها لحوالي (15 – 20 دقيقة) ليبرد في درجة حرارة الغرفة. ثم وضعت السلايدات في حوض يحوي السائل الدارئ PBS لمدة 5 دقائق ثمّ نقلت إلى حوض آخر يحوي PBS لمدّة 3 دقائق مع الانتباه لعدم جفاف المقاطع النسيجيّة خلال مراحل التلوين كافّة ، شكل (2–21).

3– تطبيق Peroxidase Blocker :

تمت إزالة المحلول الدارئ الزائد والمسح حول العيّنة بلطف. ثمّ حُدّد حول المقاطع النسيجيّة بقلم التحديد (Dako Pen) لمنع تسرّب المواد المطبّقة على النسيج . وتم تطبيق المادّة بواسطة الممص (Eppendorf) بحيث غُطيت كامل العيّنة وتُركت 5 دقائق.

غُسلت السلايدات بعدها بالمحلول الدارئ PBS ، مع تجنّب الغسيل المباشر للعيّنة النسيجيّة ثمّ وُضعت في حمّام جديد من السائل الدارئ لمدة 5 دقائق.

4- تطبيق الضد الأولي Primary Antibody :

تم تحضير الملوّنات وتمديدها بالسائل الدارئ PBS حسب التراكيز المذكورة سابقاً. وبعدها أزيل المحلول الدارئ الزائد مع المسح حول العيّنة بلطف. ثمّ طُبّق الضدّ الأولي لكل من الملوّنين بواسطة الممص بحيث غطّى كامل العيّنة. و كان زمن الحضن 30 دقيقة. غُسلت بعدها السلايدات بالمحلول الدارئ و وُضعت في حوض من السائل الدارئ لمدة 5 دقائق، شكل(2-20).

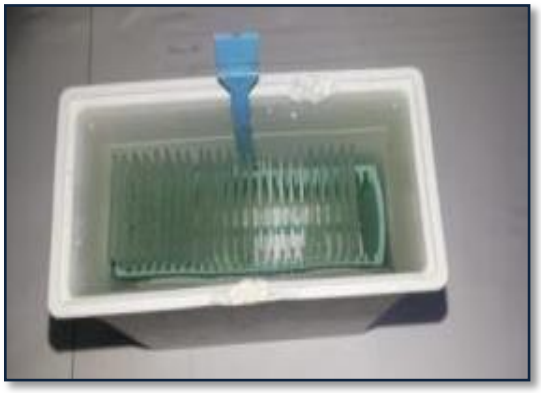
5 – تطبيق Secondary Biotinylated Link و HRP Label لمدة عشر دقائق لكل منهما .

6- تطبيق DAB :

تم تحضيره حسب توصيات الشركة المنتجة : (1مل من SUBSTRATE BUFFER مقابل 20 ميكروناً من DAB+ CHROMOGEN) مع المزج الجَيِّد ضمن عبوة مناسبة ، شكل (2-24). كذلك تمّت إزالة المحلول الدارئ الزائد من حول العيّنة، وُطبّقت المادة بواسطة الممص بحيث تغطي العيّنة وتُركت هكذا لمدة 5 دقائق ، شكل(2-25). ثمّ غسلت السلايدات بالماء بلطف.

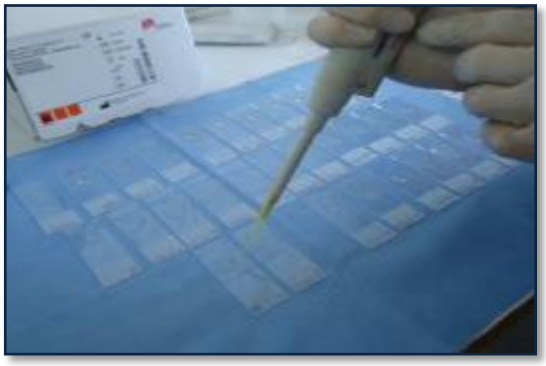
7- أخيراً تم تطبيق الهيماتوكسيلين على العيّنات لمدّة حوالي 30 ثانية ثمّ غسلت بالماء.

8 – بعدها مُرّرت السلايدات بحمّامات متتالية من الكحول 70% و95% ثمّ كحول مطلق (كل حمّام لمدة 3 دقائق) ثمّ حمّامين من الكزيلول (3-5 دقائق لكل واحد). و في النهاية سُترت العيّنات ببلسم كندا وأصبحت جاهزة للدراسة المناعيّة .



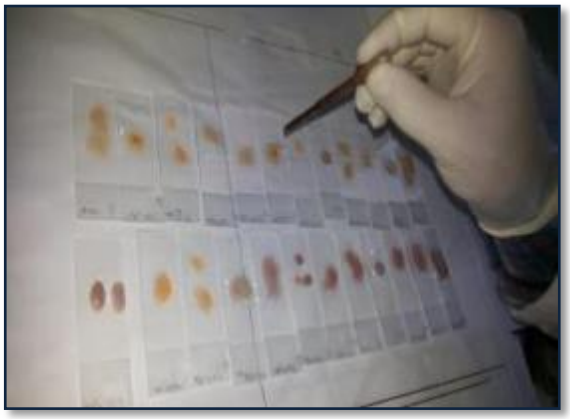
شكل (2–21)غمر السلايدات في حوض يحوي السائل الدارئ

شكل (2–20) تطبيق الضدّ الأولي



شكل (2–23) تطبيق HRP على النسيج

شكل (2–22) تطبيق الضد الثانوي البيوتيني



شكل (2–25) تطبيق الكروموجين

شكل (2–24) تحضير الكروموجين

شكل (2-26) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج

2-4-4: تقييم العيّنة الشاهدة:

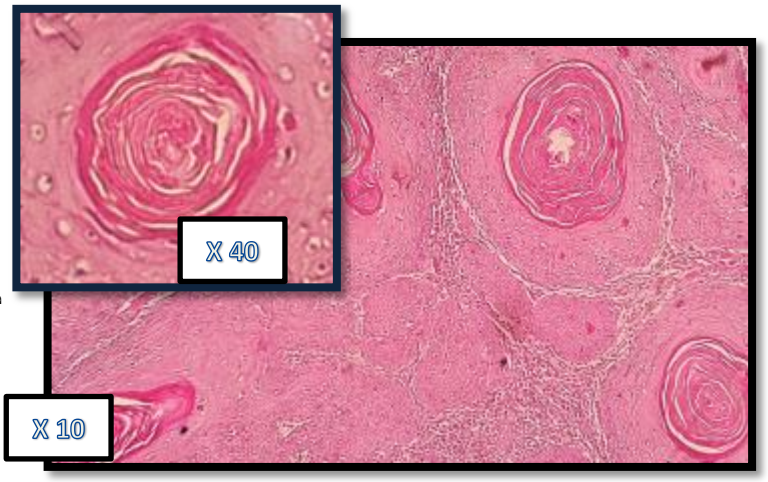
تم فحص العيّنة الشاهدة بعد تلوينها بالهيماتوكسيلين – إيوزين تحت المجهر الضوئي ، والتأكّد من خلوّها من أي علامات التهابيّة أو فرط تكاثر أو سوء التصنع.

2-4-5: تقييم الدرجة النسيجيّة :

بعد إنهاء تلوين محّضرات عيّنة الدراسة بالهيماتوكسلين إيوزين تمّ فحصُها تحت المجهر الضوئي للتأكّد من صحّة التشخيص ، واستبعدت أي حالة تدعو للشك والحالات سيّئة الحفظ أو التثبيت ، ثمّ تم تقييم درجة التمَايُز النسيجيّة لكلّ حالة ، وقد تمّ اعتماد تصنيف منظّمة الصحّة العالميّة 2005 (Barnes et al., 2005)

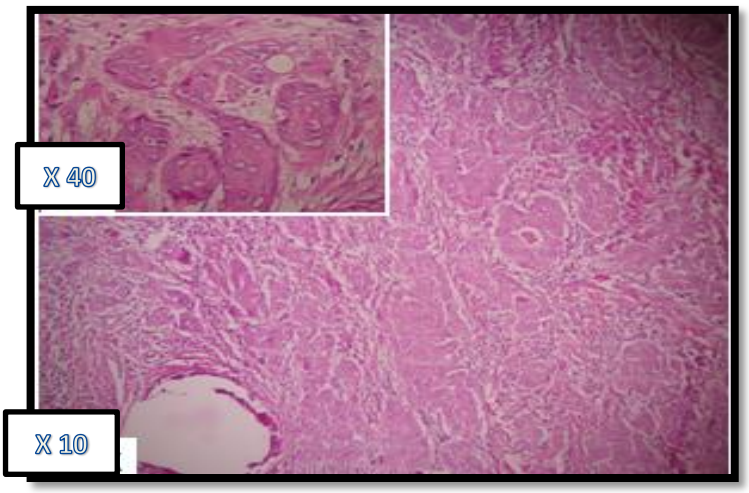
الدرجة النسيجيّة	الدرجة I	الدرجة II	الدرجة III
كرات التقرّن	كثيرة العدد	متوسّطة العدد	قليلة أو معدومة
علائم الكشم الخلوي	أقل من 25%	حول 50%	أكثر من 75%
نمط الغزو	جزر كبيرة	جزر أو حبال متوسّطة	جزر صغيرة أو حبال رقيقة وخلايا مفردة
الاستجابة المناعيّة	غزيرة	متوسّطة	قليلة أو معدومة

الجدول(2-1) المعايير المتبعة في تقييم الدرجة النسيجيّة.



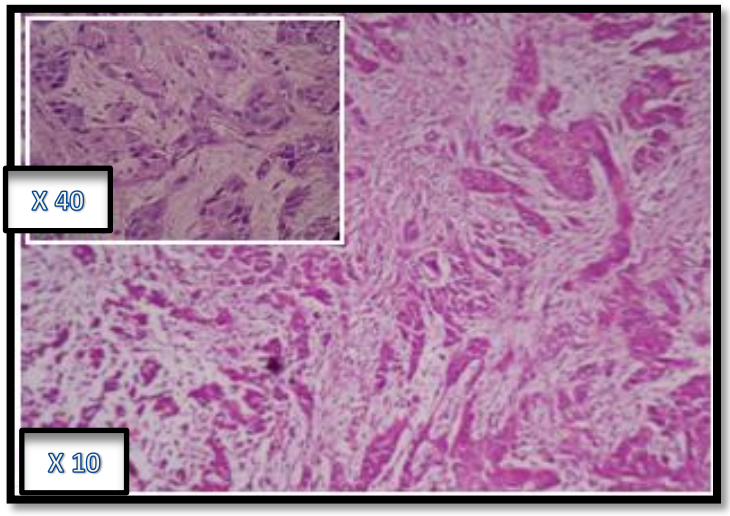
شكل (2-27)

سرطان شائِك الخلايا درجة أولى



شكل (2-28)

سرطان شائِك الخلايا درجة ثانية



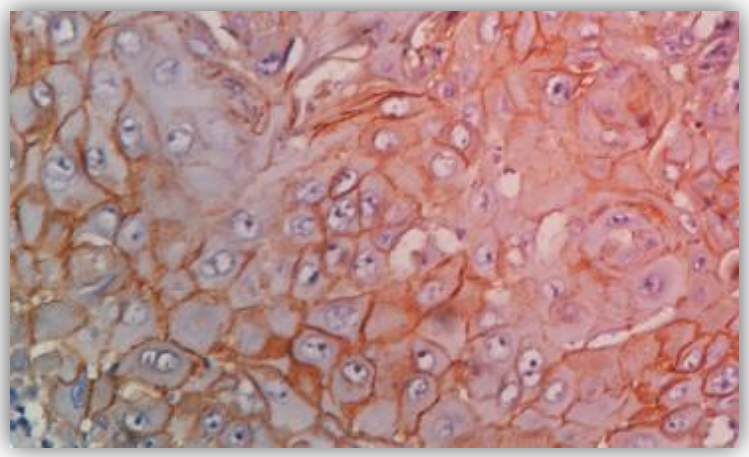
شكل (2-29) سرطان شائِك

الخلايا درجة ثالثة

2-4-6: تقييم التلوين المناعي وطريقة العد :

تمّ عدّ الخلايا في المحضّرات الملوّنة مناعيّاً بأخذ صور لخمسة ساحات مختلفة من كل محضّر بحيث تكون حاوية على جزر ورميّة بشرويّة ، وتمّ اختيارها من بين الجزر الأكثر اندخالاً ضمن النسيج الضام. اعتُبِرت طبيعيّةً كلُّ خليّةٍ اظهرت لوناً بنيّاً مستمرّاً على كامل الغشاء الخلوي و ذلك في كلا الملوّنين المستعملين ، واعتُبِرت شاذّة كل خليّة أبدت تلوّناً هيوليّاً أو نوويّاً أو لم تُبدي تلوّناً غشائيّاً سليماً ومستمرّاً.

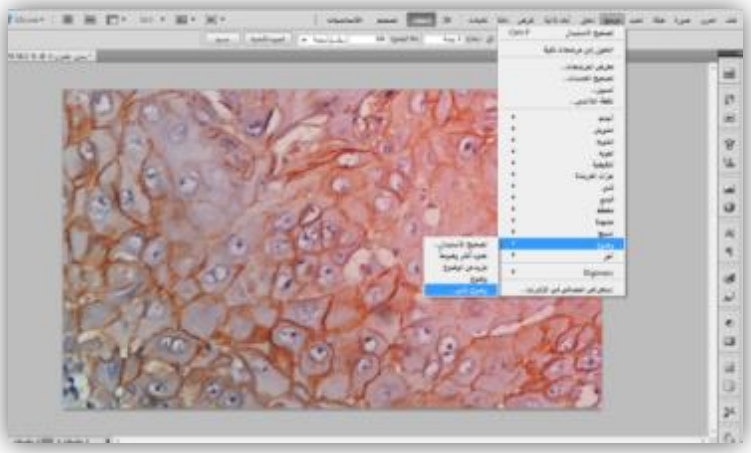
تمّت مُعالجة الصور لزيادة حدّة الألوان وعد الخلايا باستخدام برنامج Photoshop cs5 ، شكل (2-31) حيث لوّنت جميع الخلايا البشرويّة في الجزيرة الورميّة باللّون الأخضر ثمّ لوّنت الخلايا التي لم تبدي تعبيريّة غشائيّة سليمة باللّون الأصفر و الخلايا التي أبدت تعبيريّة هيوليّة باللون الأزرق و الخلايا التي ظهرت تعبيريّة الملوّن في نواتها باللّون الأحمر ، شكل(2-35) .



الشكل (2-30)

مقطع من جزيرة ورميّة

قبل المعالجة الحاسوبيّة

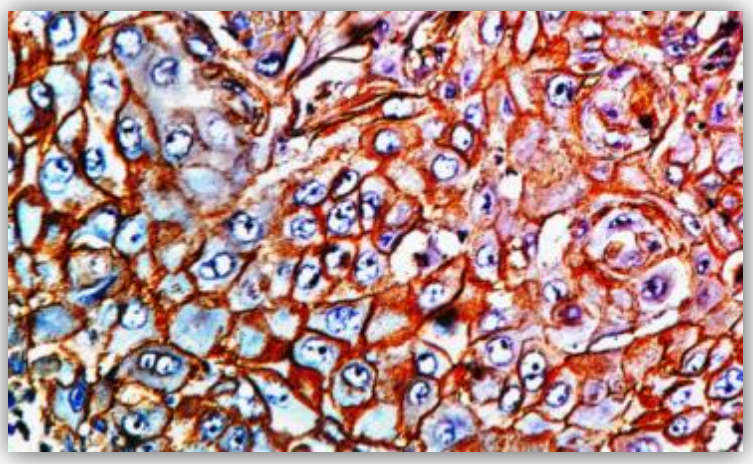


الشكل (2-31)

زيادة حدّة الألوان

باستخدام برنامج

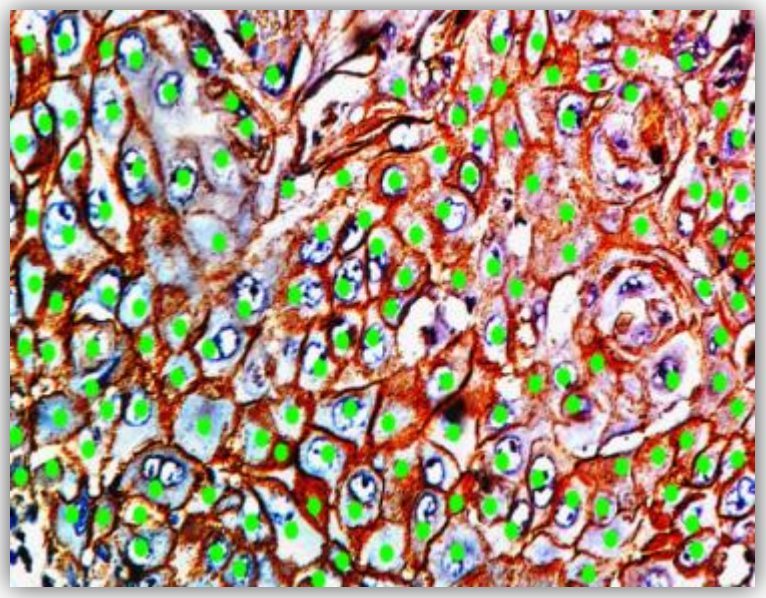
Photoshop cs5



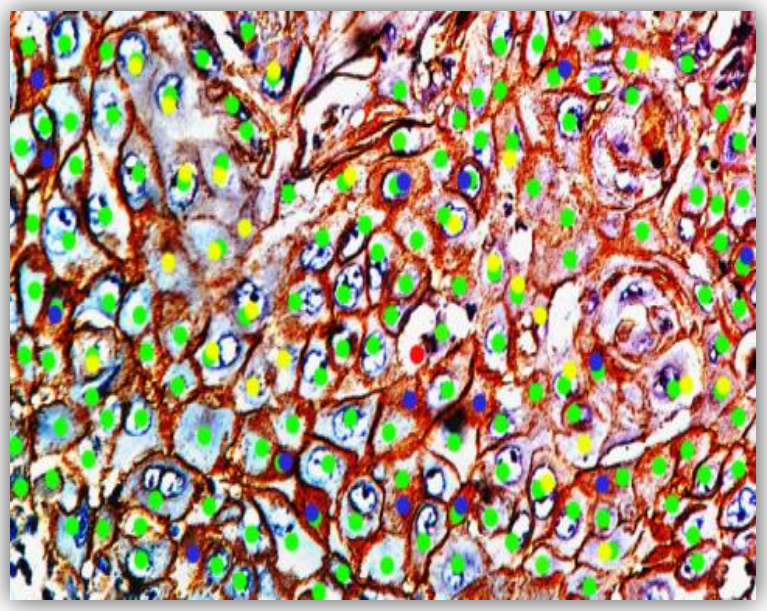
الشكل (2-33)

الساحة النسيجيّة الورميّة

بعد معالجتها



الشـــكل (2-34) طريقـــة العـد اليدويّـة لكامـل الخلايـا الظهاريّـــة فـــي الجزيـــرة الورميّة



الشـكل(2-35) عـد الخلايـا التـي أبـدت شـذوذاً للتلـوين (الأصـفر للخلايـا التـي أبـدت نقصـاً فـي التعبيريّـة ، الأزرق للخلايا التي أبدت تلوناً هيولياً ، الأحمر للخلايـا التـي أبـدت تعبيريّة في النواة)

2-5: الاختبارات الإحصائية المستخدمة:

أُجريت الدراسة الإحصائيّة باستخدام برنامج SPSSv.19 ، واستُخدِمت التحاليل التالية:

2-5-1: تحليل التباين One-way ANOVA :

لتحرّي وجود فروق في تعبيريّة كل من E-cadherin و β-catenin بين الدرجات النسيجيّة الثلاث.

اختبار تحليل التباين (One-Way ANOVA) :

اختبار إحصائي يستخدم لدراسة الفروق بين متوسّطات عدّة عينات مستقلّة ، أي مُقارنة معيار معين بين عدّة مجموعات منفصلة ، حيث تُحسب قيمة المعنويّة (P-value) من إحصاء الاختبار (F) ثمّ نقارنها بالقيمة (α=0.05) ، فإذا كانت (P-value < 0.05) فإنّ الاختبار معنوي و نقبل الفرضيّة البديلة H1 بثقة 95 % . ويمكن صياغة الفرضيّات التي يختبرها بالشكل التالي :

فرضيّة العدم H0 : العيّنات المدروسة تعود إلى المجتمع نفسه ، أي لا يوجد فرق معنوي بين الدرجات النسيجية للسرطان أو لا توجد فروق معنويّة بين متوسّطات الدرجات الثلاث .

الفرضيّة البديلة H1 : العيّنات المدروسة تعود إلى مجتمعات مختلفة ، أي يوجد فرق معنوي بين الدرجات النسيجية للسرطان أو توجد فروق معنويّة بين متوسّطات الدرجات الثلاث .

و في حال وجود فروق ، نجري اختبار توكي Tukey لدراسة الفروق بين كل مجموعتين مثنى مثنى .

2-5-2: تحليل ارتباط بيرسون :

لتحرّي وجود علاقة بين تعبيريّة E-cadherin و β-catenin

معامل ارتباط بيرسون (Pearson Correlation Coefficient):

يستخدم معامل ارتباط بيرسون R من أجل معرفة إذا ما كان هناك تأثير مشترك للمتغيّرات المدروسة ومن ثمّ وَصف هذا التأثير في حال وجود علاقة ارتباط .

ومن أجل معرفة شكل علاقة الارتباط إن وجدت يحسب معامل الارتباط ، حيث تكون قيمته محدودة بالمجال {-1,1} ، حيث تدل القيم الموجبة على علاقة طرديّة (إيجابيّة) بين البروتينين المدروسين والقيم السالبة تشير إلى علاقة عكسيّة بينهما ، كما يدل اقتراب قيمة معامل الارتباط من الصفر إلى ضعف العلاقة ويدل اقتراب القيمة من الواحد إلى قوّة هذه العلاقة .

نقوم بحساب مستوى المعنويّة (P-value) من معامل الارتباط ونقارنها بالقيمة (α=0.05) ، فإذا كانت (P-value < 0.05) فإننا نقبل الفرضيّة البديلة H1 بثقة 95 % . حيث نختبر الفرضيات التالية :

فرضيّة العدم H0: لا يوجد ارتباط بين تعبيرية E-cadherin و β−catenin.

الفرضيّة البديلة H1 : يوجد ارتباط بين تعبيرية البروتينين .

و بشكل عام نستدل على مدى قوة ارتباط متغيّرين حسب قيمة معامل الارتباط كما يلي :

دلالة قوّة الارتباط	مجال قيمة معامل ارتباط بيرسون r
ارتباط ضعيف	r < 0.30
ارتباط متوسّط القوة	0.30 < r < 0.70
ارتباط قوي	0.70 < r

اعتبرت التحاليل الإحصائية ذات دلالة عند P<0.05

الباب الثالث : النتائج والدراسة الإحصائيّة

Results and Statistical Study

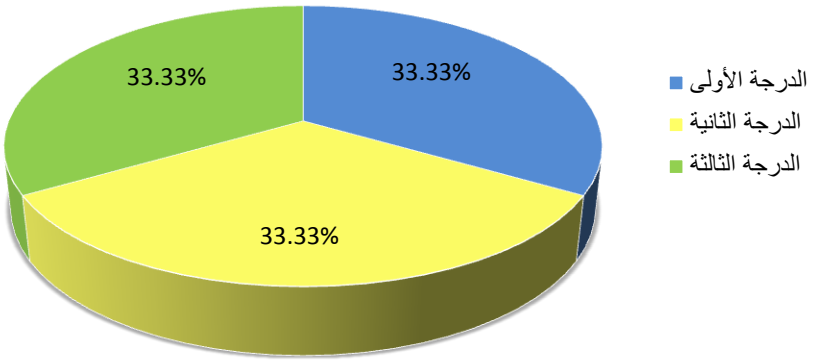
1-3 عيّنة البحث :

تألّفت عيّنة البحث من 33 خزعة مأخُوذة من 33 مريضاً مُصاباً بالسَرَطان شائِك الخلايا في منطقة الرأس و العنق ، تم تقسيمُهم إلى 3 مجموعات حسب درجة الإصابة ، بحيث احتوت كل من المجموعات الثلاث 11 مريضاً (33.33 %) .

تمّ الحصول على ثلاثة محضّرات نسيجيّة من كُل خزعة لُوِّن أحدُها بالهيماتوكسيلين–ايوزين و الثاني بواسِم كيميا مناعي نسيجي للـ E–cadherin و الثالث بواسِم كيميامناعي نسيجي للـ β– catenin .

حُدِّدَ حجم العيّنة بالاستناد إلى دراسات مُشابهة و دراسة مبدئيّة للعيّنة ، و تمَّ حساب حجم العيّنة عند حجم الخطأ من النوع الأول $\alpha=0.05$ ، و قوة الاختبار $P=0.95$ ، و ذلك باستخدام برنامج G*power .

دُرست 5 ساحات نسيجيّة من كل محضّر ، و اعتُبر أنّ نسبة تعبيريّة الملوّن في كل محضر هي المتوسّط للسّاحات الخمس المدروسة ، كما دُرس موقِع تعبيريّة البروتين في كل ساحة .

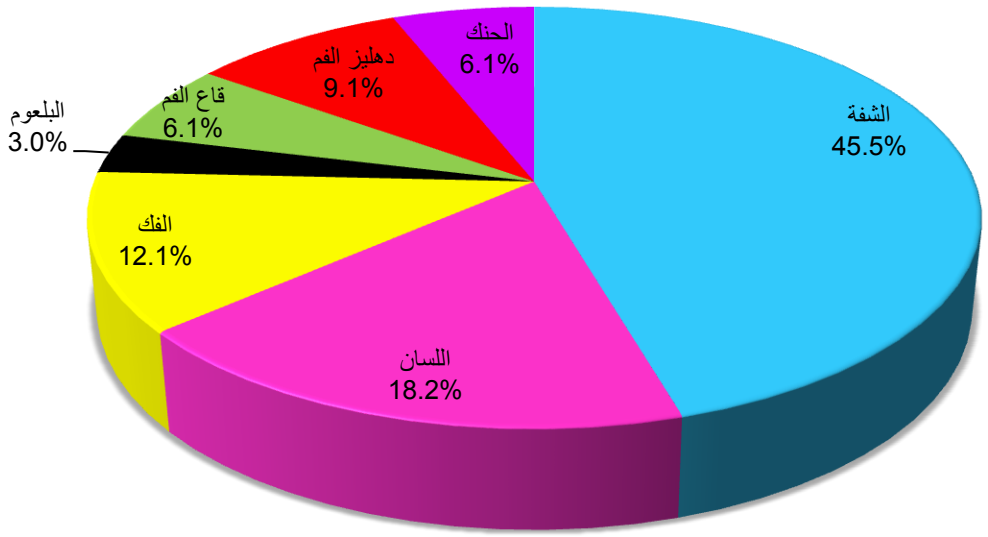


مخطّط (3-1) تقسيم العيّنة حسب درجة الإصابة

وكان توزّع مواقع الإصابات في هذه الدراسة حسب الجدول التالي :

الموقع	العدد	النسبة
الشفة	15	% 45.5
اللسان	6	% 18.2
الفك	4	% 12.1
البلعوم	1	% 3
قاع الفم	2	% 6.1
دهليز الفم	3	% 9.1
الحنك	2	% 6.1

جدول (3–1) توزّع مواقع الاصابات في عيّنة الدراسة

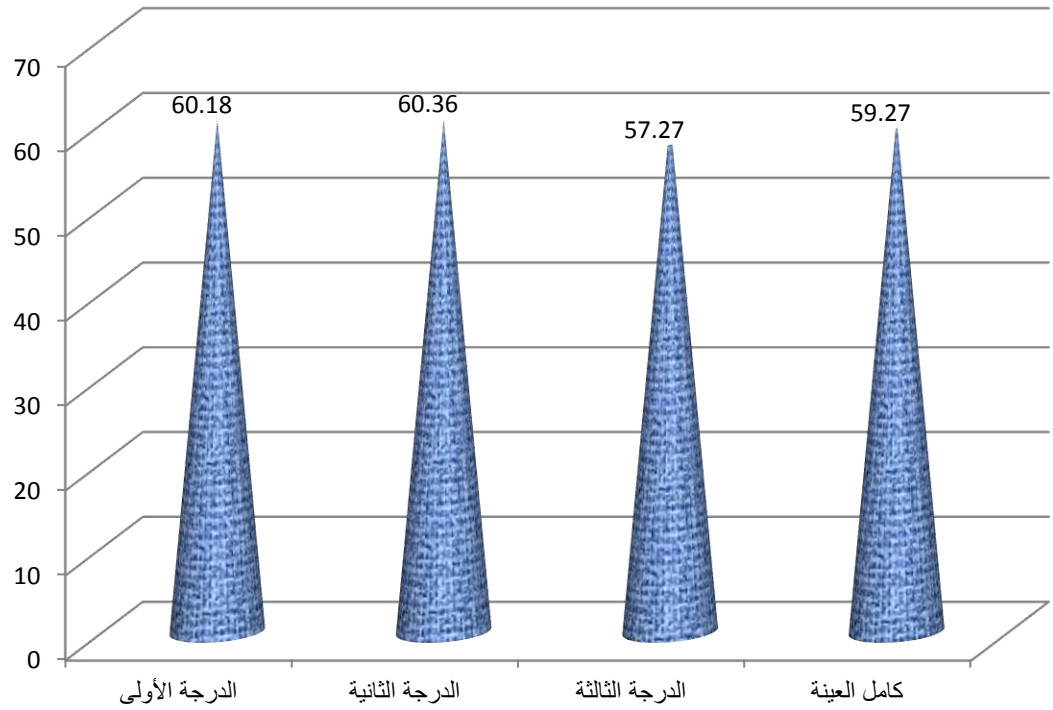


مخطّط (3-2) توزع مواقع الاصابات في العيّنة

كما كان توزّع أعمار المرضى في العيّنة كما يُبيِّن الجدول التالي :

الدرجة النسيجيّة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أكبر قيمة
الدرجة الأولى	60.18	15.19	44	90
الدرجة الثانية	60.36	14.73	42	90
الدرجة الثالثة	57.27	19.55	18	83
كامل العيّنة	59.27	16.17	18	90

جدول (3-2) توزع أعمار المرضى في العيّنة

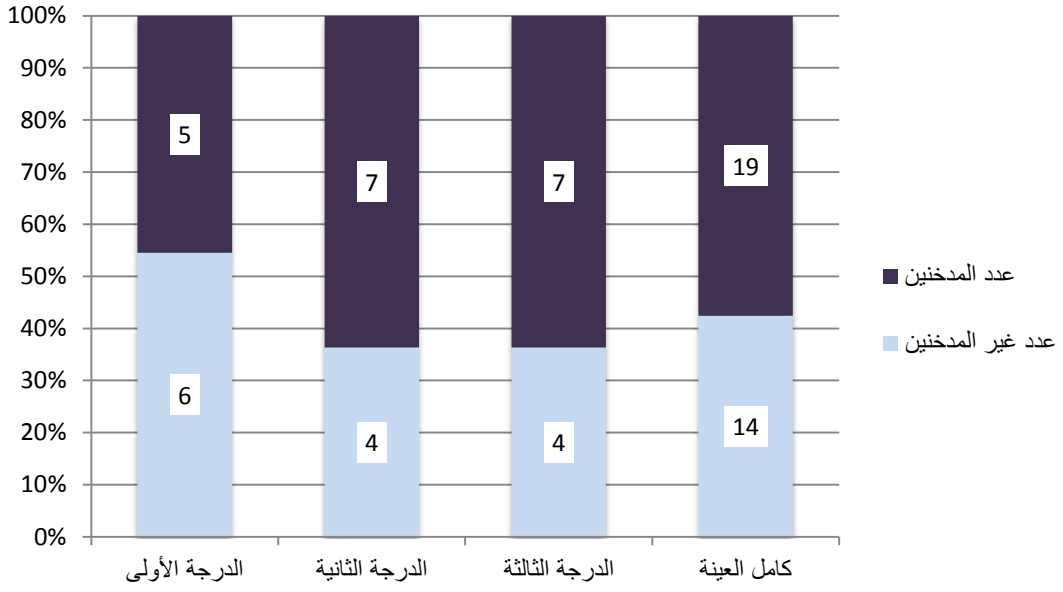


مخطّط (3-3) متوسّط العمر لدى كل من مجموعات العيّنة

تم إحصاء المُدخّنين و غير المُدخّنين في العيّنة فكان توزيعهم كما يلي :

الدرجة النسيجيّة	عدد غير المُدخّنين	نسبة غير المُدخّنين	عدد المُدخّنين	نسبة المُدخّنين
الدرجة الأولى	6	% 54.5	5	% 45.5
الدرجة الثانية	4	% 36.4	7	% 63.6
الدرجة الثالثة	4	% 36.4	7	% 63.6
كامل العيّنة	14	% 42.4	19	% 57.6

جدول (3-3) توزع المُدخّنين في العيّنة



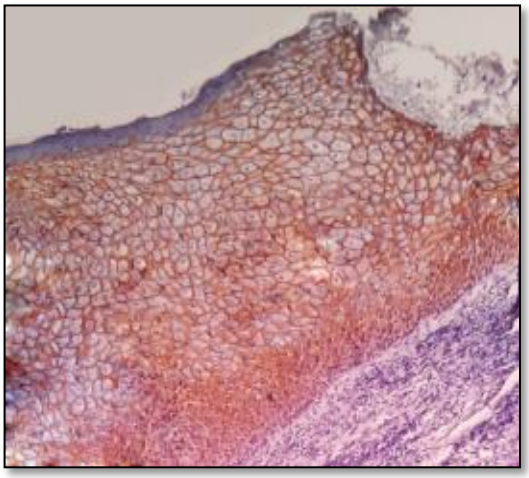
مُخطّط (3-4) توزُّع المُدخّنين في العيّنة

2-3 : الاختبار الإحصائي :

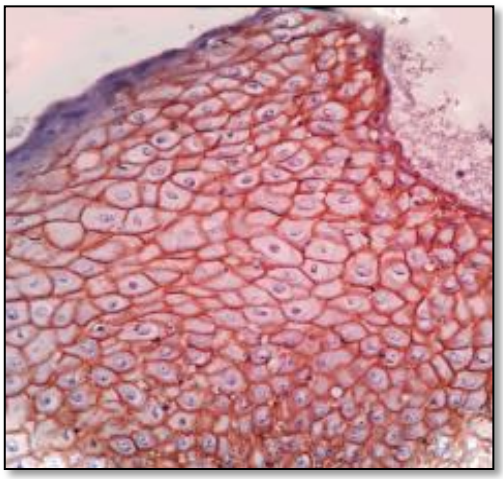
3-2-1: دراسة الملوّن E-cadherin :

3-2-1-1: العيّنة الشاهِدة :

أظهرت الخلايا الشائِكة في بشرة العيّنة الشاهدة تعبيريّة قويّة تجاه الملوّن ، وقد توزعت التعبيريّة على كامل الغشاء الخلوي للخلايا الشائِكة، دون ملاحظة أي تعبيريّة سيتوبلاسميّة أو نوويّة .



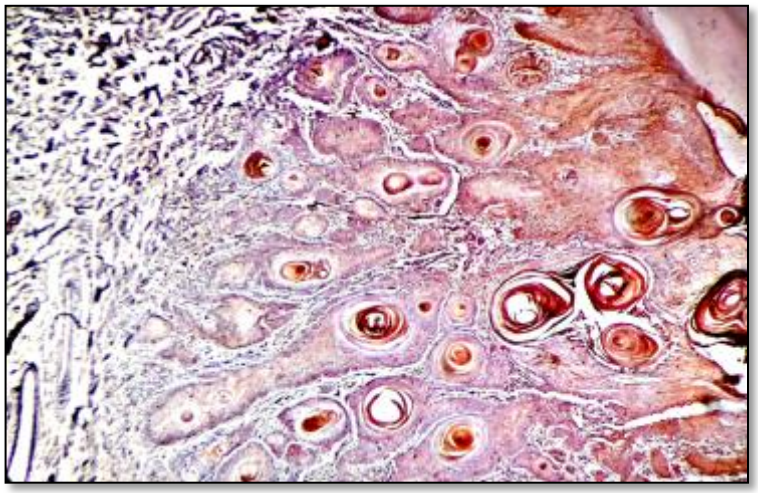
شكل (3-1) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في العيّنة الشاهدة . تكبير 100 مرّة



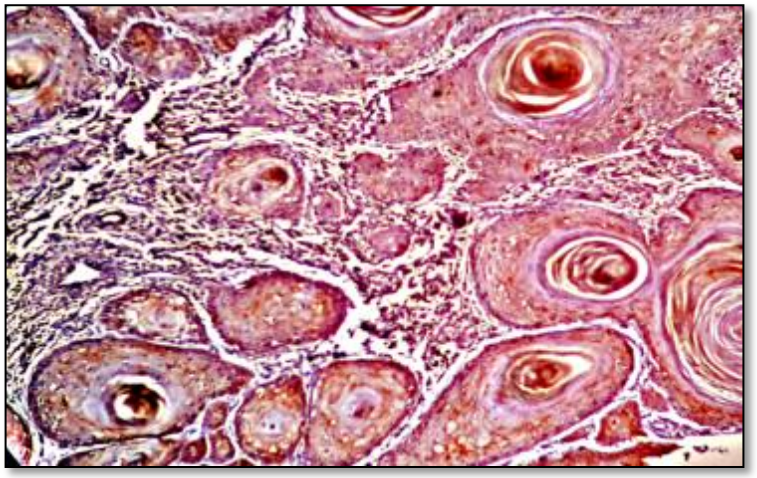
شكل (3-2) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في العيّنة الشاهدة . تكبير 400 مرّة

3-2-1-2 : عيّنة الدِراسة :

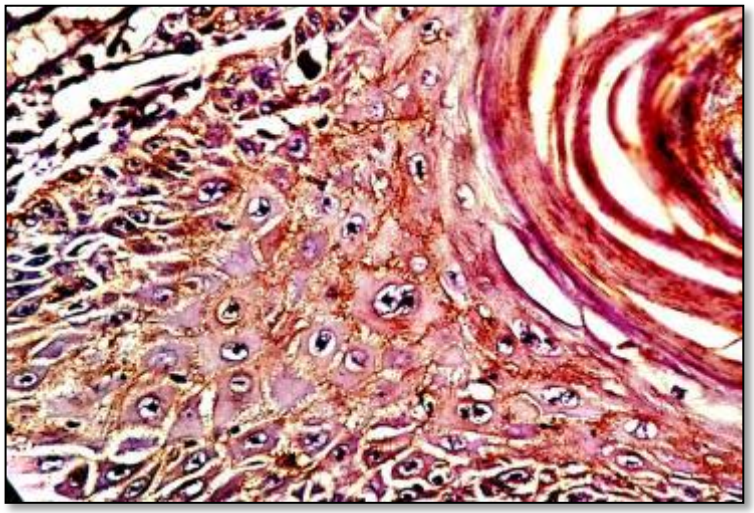
أظهر التلوين المناعي لعيّنة الدراسة تعبيريّة متباينة تجاه الملوّن . وتراوحت التعبيريّة بين القويّة و المتوسّطة والضعيفة . ولوحظ وجود سلبيّة للتعبيريّة في بعض المقاطع و في بعض الخلايا ، و لم تظهر تعبيريّة الملوّن بشكل طبيعي في جميع الخلايا الشائِكة المتوضِّعة في الجزر الورميّة ، كما ظهرت التعبيريّة في هيولى بعض الخلايا .



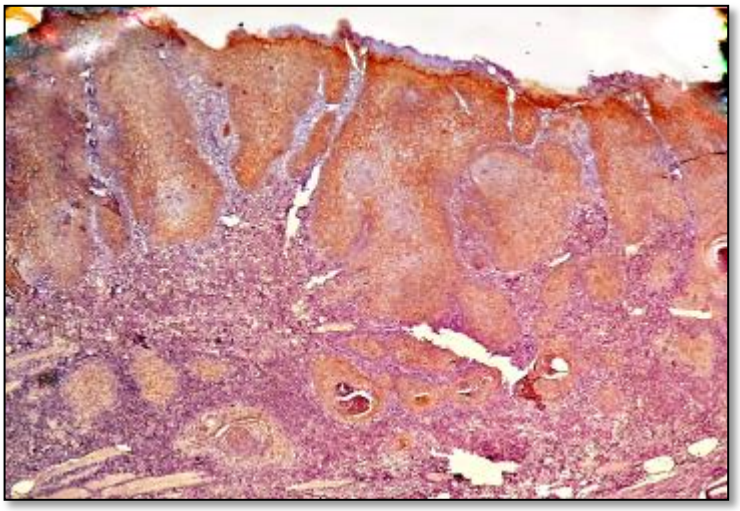
شكل (3-3) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 40 مرّة .



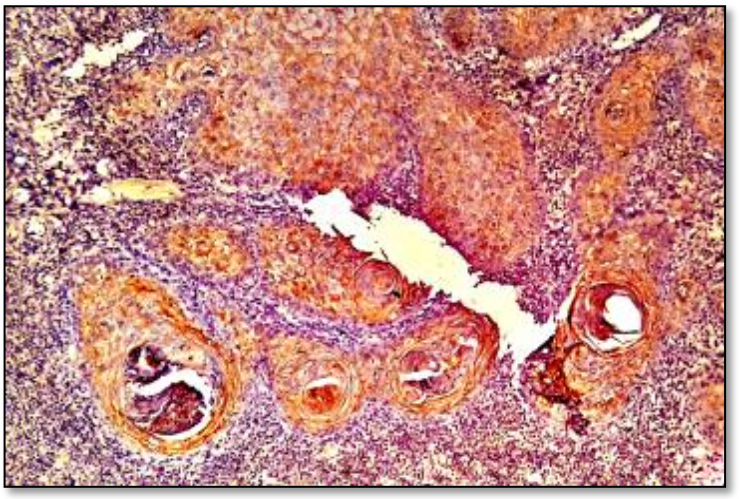
شكل (3-4) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 100 مرّة .



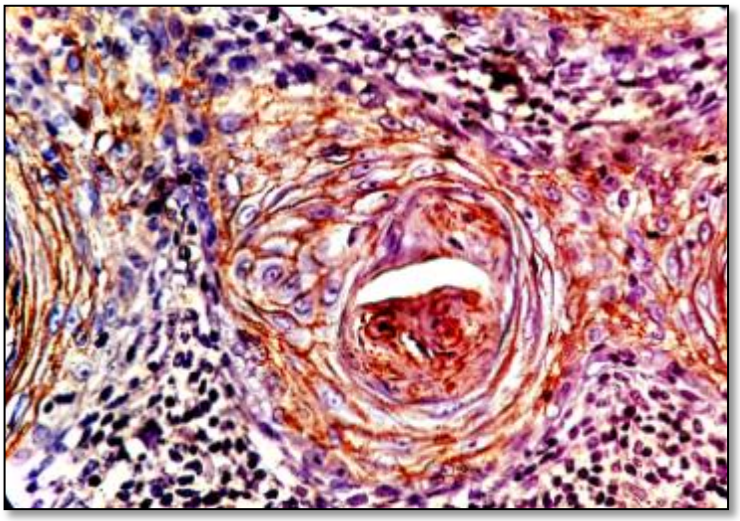
شكل (3-5) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 400 مرّة .



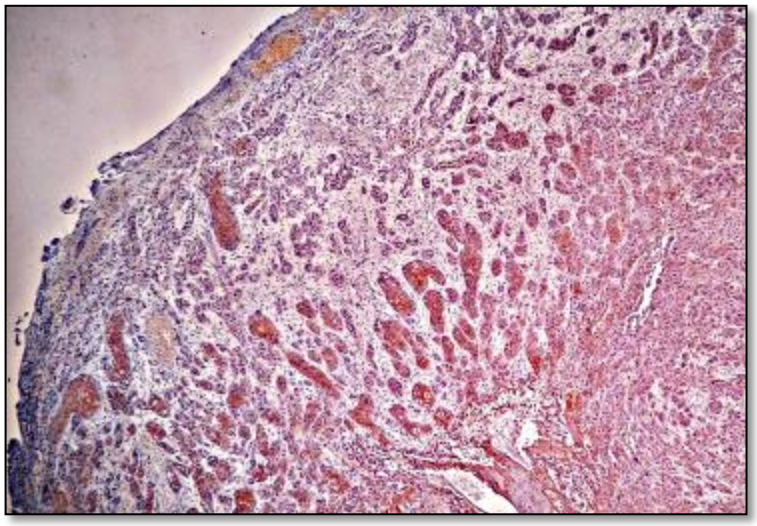
شكل (3-6) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 40 مرّة .



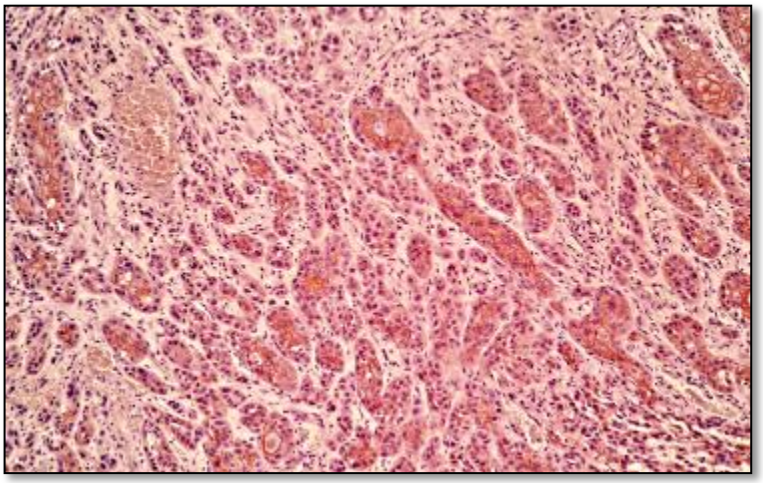
شكل (3-7) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 100 مرّة .



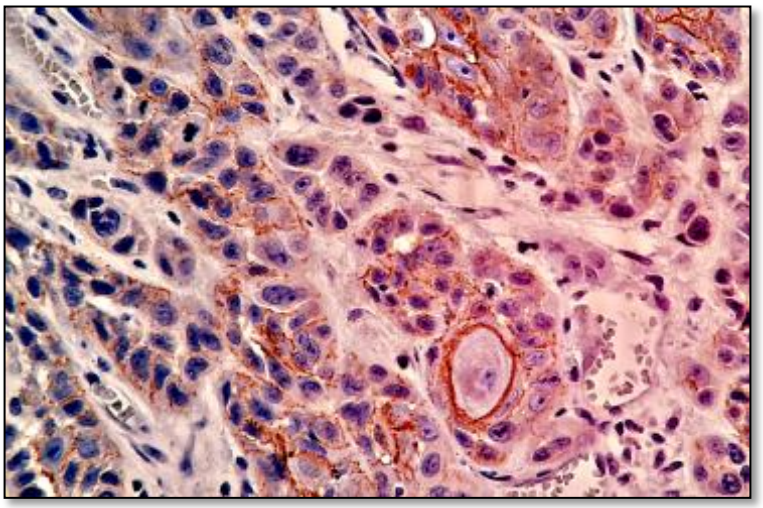
شكل (3-8) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 400 مرّة .



شكل (3-9) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 40 مرّة .



شكل (3-10) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 100 مرّة .



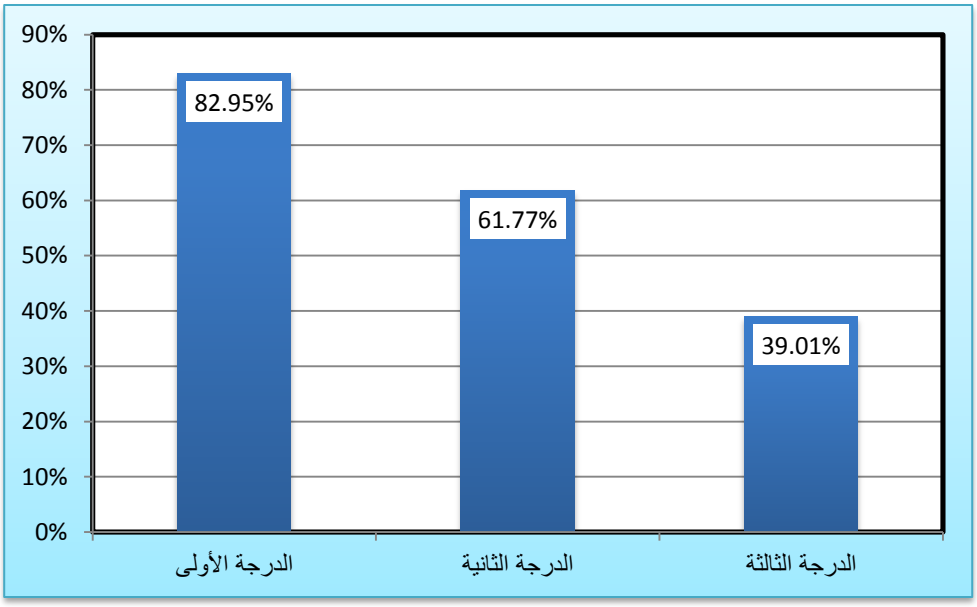
شكل (3-11) تعبيريّة ملوّن E-cadherin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 400 مرّة .

3-2-1-3: الدِراسة الاحصائيّة لملوّن E-cadherin

تمَّ حِساب نسبة الخلايا المتلوّنة لدى المرضى وهي الخلايا الشائِكة التي أبدَت ايجابيّة تجاه الملوّن من أصل جميع خلايا الجزيرة الورميّة المدروسة ، و يتلخّص الإحصَاء الوصفي لِنسَب الخلايا المتلوِّنة في مجموعات العيّنة في الجدول التالي :

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	% 82.950	% 7.170	% 70.048	% 91.232
الدرجة الثانية	% 61.773	% 8.494	% 50.955	% 77.155
الدرجة الثالثة	% 39.009	% 9.669	% 25.771	% 62.644
كامل العيّنة	% **61.244**	% 19.996	% 25.771	% 91.232

جدول (3-4) نسب الخلايا المتلوّنة بالـ E-cadherin في عيّنة الدراسة



مخطّط (3-5) متوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بالـ E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة

للتحقّق من وجود فروق في متوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بين المجموعات الثلاث ، نجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
73.419	* 0.000	**توجد فروق معنويّة إحصائيّاً**

جدول (3-5) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّط نسب الخلايا المتلوّنة بالـ E-cadherin

تبين نتائج الاختبار وجود فروق معنويّة إحصائيّاً في متوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بين الدرجات الثلاث ، و لدراسة هذه الفروق بالتفصيل ، نجري اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثنى مثنى ، و يلخّص الجدول التالي النتائج :

المجموعتان المقارنتان		فرق المتوسّطات	مستوى الدلالة P.value
الأولى	**الثانية**	21.177 %	* 0.000
الأولى	**الثالثة**	43.941 %	* 0.000
الثانية	**الثالثة**	22.764 %	* 0.000

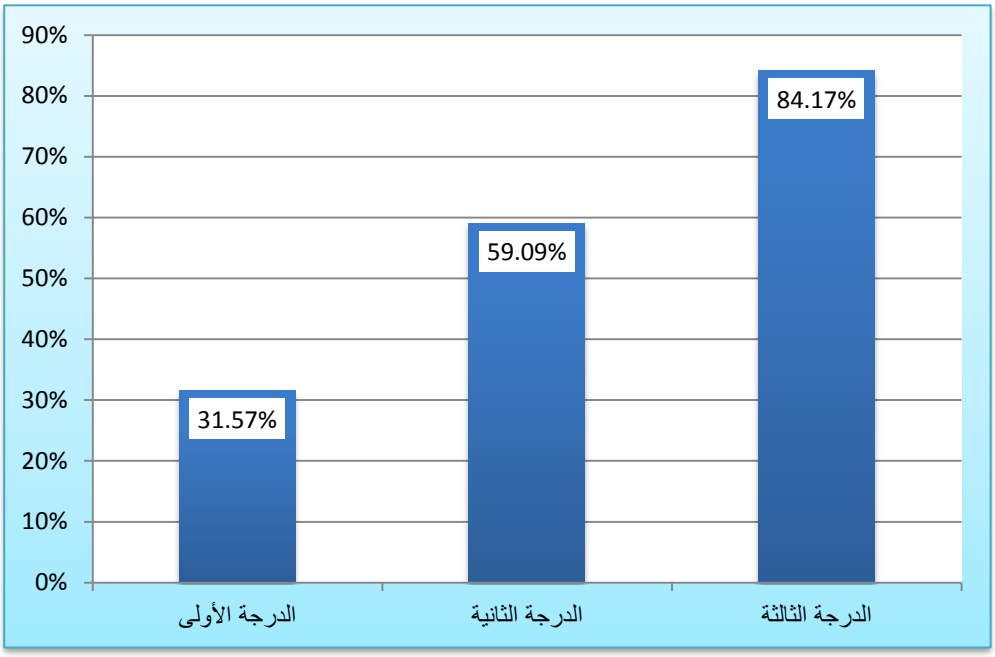
جدول (3-6) نتائج اختبار Tukey لدراسة فرق نسب التلوّن بين المجموعات الملوّنة بالـ E-cadherin مثنى مثنى

نُلاحظ وجود فروق مَعنويّة في متوسّطات نِسب الخلايا المتلوّنة بين المجموعات الثلاث ، بحيث تتناقَص هذه النسبة بزيادة درجة الإصابة ، و ذلك بثِقة إحصائيّة 95 % .

كما تمّ حساب نسبة الشذُوذ في الخلايا لدى المرضى ، حيثُ أنَّ الخليّة الشاذّة هي التي لا تعبّر عن الملوّن بشكل سليم على غِشائها الخلوي أو تُعبّر عنه في الهيولى ، و يتلخّص الإحصاء الوصفي لنسب الشذوذ لدى المرضى في كل من المجموعات الثلاث :

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	% 31.566	% 6.873	% 21.446	% 43.087
الدرجة الثانية	% 59.093	% 8.140	% 44.501	% 67.819
الدرجة الثالثة	% 84.174	% 6.478	% 74.169	% 94.773
كامل العيّنة	% 58.278	% 22.905	% 21.446	% 94.773

جدول (3-7) نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة



مخطّط (3-7) متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة

للتحقُّق من وجود فروق في متوسّطات نِسب الخلايا الشاذّة بين المجموعات الثلاث ، نُجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
146.975	* 0.000	**توجد فروق معنويّة إحصائيّاً**

جدول (3-8) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لفرق المتوسّطات من حيث الشذوذ تجاه ملوّن E-cadherin

تبيّن نتائج الاختبار وجود فروق معنويّة إحصائيّاً في متوسّط النسب للخلايا الشاذّة بين الدرجات الثلاث ، و لدراسة هذه الفروق بالتفصيل ، نجري اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثنى مثنى ، و يلخّص الجدول التالي النتائج :

المجموعتان المقارنتان		فرق المتوسّطات	مستوى الدلالة P.value
الأولى	**الثانية**	27.528	* 0.000
الأولى	**الثالثة**	52.609	* 0.000
الثانية	**الثالثة**	25.081	* 0.000

جدول (3-9) نتائج اختبار Tukey لدراسة فرق الشذوذ بتلوين E-cadherin بين المجموعات مثنى مثنى

نلاحظ وجود فروق معنويّة في متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة بين المجموعات الثلاث ، بحيث تتزايد هذه النسبة بزيادة درجة الإصابة ، و ذلك بثقة إحصائيّة 95 % .

كما قمنا بدِراسة نسب تعبيريّة الملوّن في الهيولى و يلخّص الجدول التالي الإحصاء الوصفي لنسبة التعبيريّة الهيوليّة للـ E-cadherin في العيّنة المدروسة :

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	14.516	3.314	9.499	19.575
الدرجة الثانية	20.867	9.554	9.712	42.241
الدرجة الثالثة	23.183	13.110	11.123	57.417
كامل العيّنة	19.522	9.976	9.499	57.417

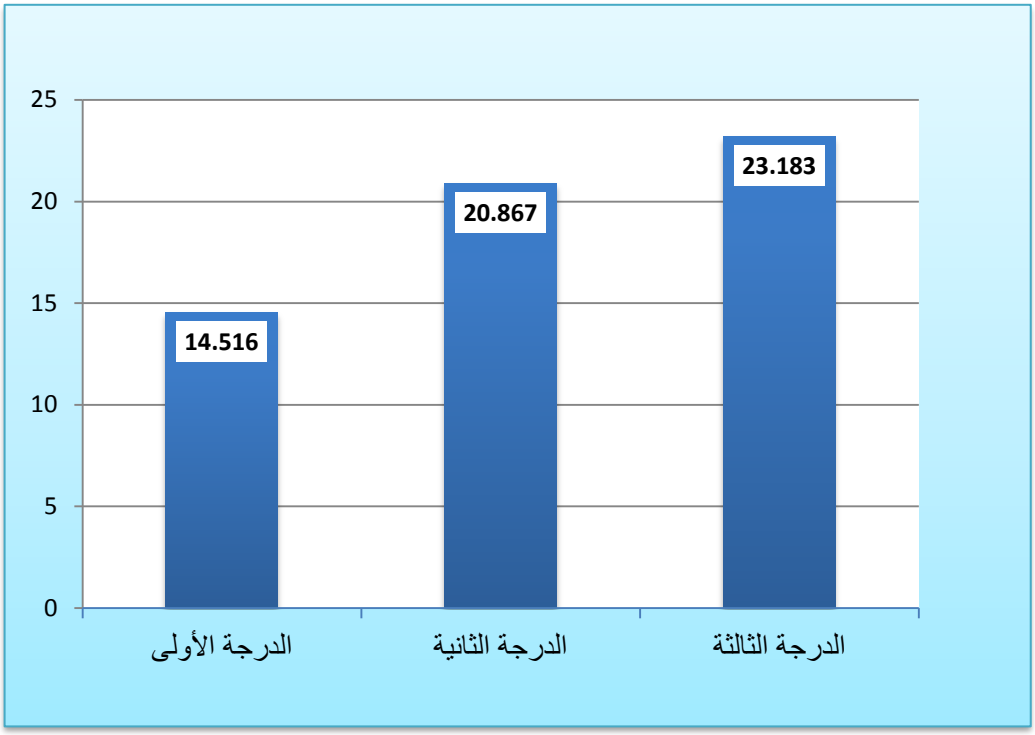
جدول (3-10) متوسّط نسب التعبيريّة الهيولية للـ E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة .

للتحقُّق من وجود فروق في متوسّطات التلوّن الهيولي بين المجموعات الثلاث ، نجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
2.424	0.106	**لا توجد فروق معنويّة إحصائيّاً**

جدول (3-11) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لفروق متوسّطات التلوّن الهيولي للـ E-cadherin

يتبين من نتائج الاختبار ، و بثقة 95% ، عدم وجود فروق دالّة معنويّة في التعبيريّة الهيوليّة بين المجموعات الثلاث .

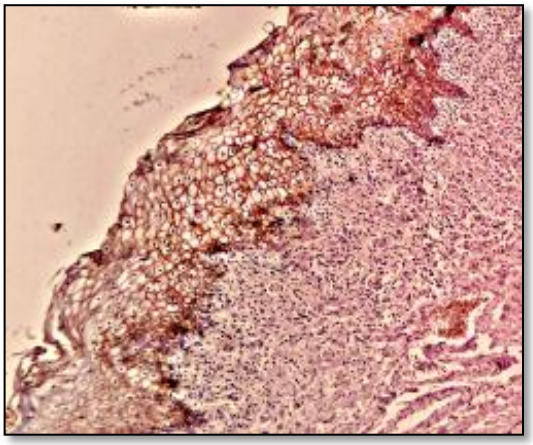


مخطّط (3-7) متوسّطات نسب التلوّن الهيولي للـ E-cadherin في مجموعات عيّنة الدراسة

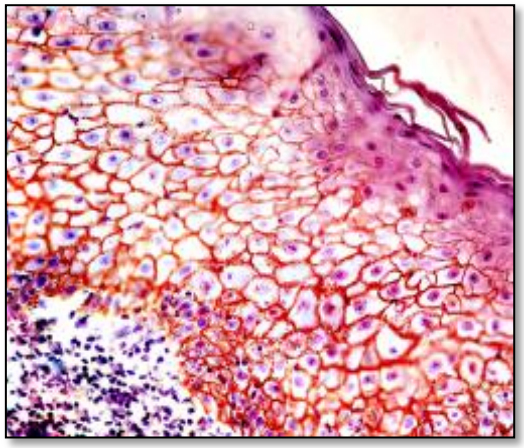
3-2-2: دراسة الملوّن β – catenin :

3-2-2-1: العيّنة الشاهِدة :

أظهرت العيّنات المأخوذة من البشرة الفمويّة السليمة تعبيريّة غشائيّة قويّة للبيتا–كاتينين، دون أن تبدي أي تعبيريّة في الهيولى أو في النواة، كما في الشكل .



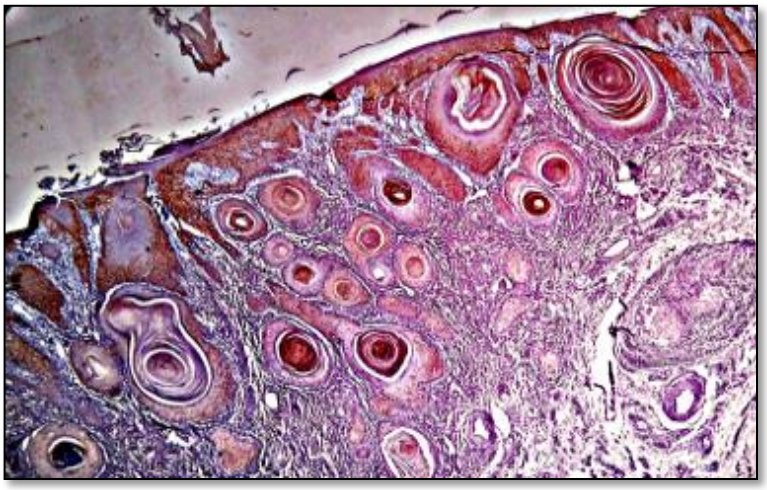
شكل (3–12) تعبيريّة ملوّن β–catenin في العيّنة الشاهدة . تكبير 100 مرّة .



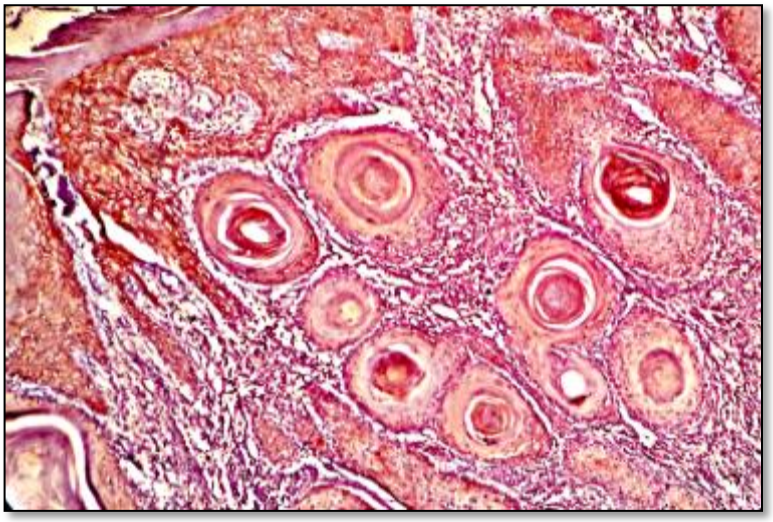
شكل (3–13) تعبيريّة ملوّن β–catenin في العيّنة الشاهدة . تكبير 400 مرّة .

3-2-2-2: عيّنة الدراسة

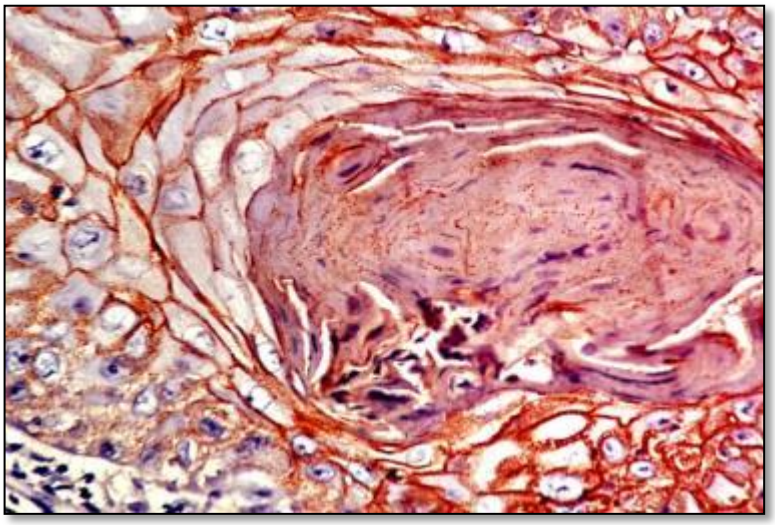
أظهر التلوين المناعي لعيّنة الدراسة تعبيريّة متباينة تجاه الملوّن . وتراوحت التعبيريّة بين القويّة و المتوسّطة والضعيفة . لوحظ وجود سلبية للتعبيريّة في بعض المقاطع النسيجيّة و في بعض الخلايا ، اذ لم تظهر تعبيريّة الملوّن بشكل سليم في جميع الخلايا الشائِكة المتوضعة في الجزر الورميّة ، كما ظهرت التعبيريّة في هيولى ونوى بعض الخلايا .



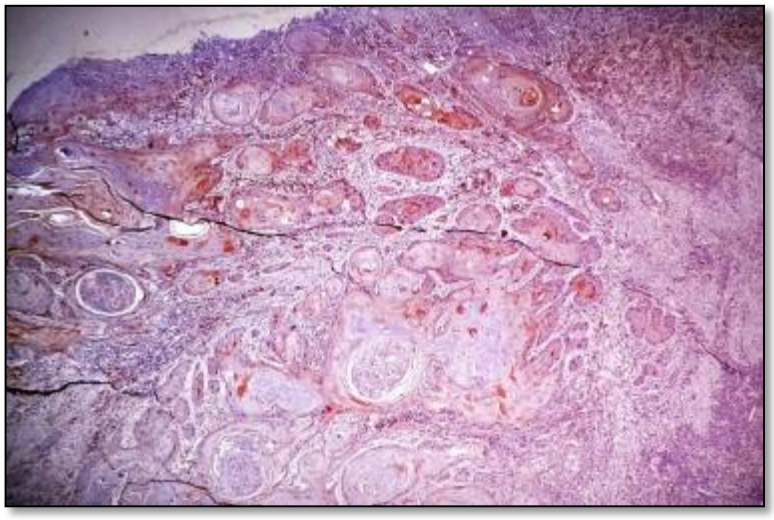
شكل (3-14) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 40 مرّة .



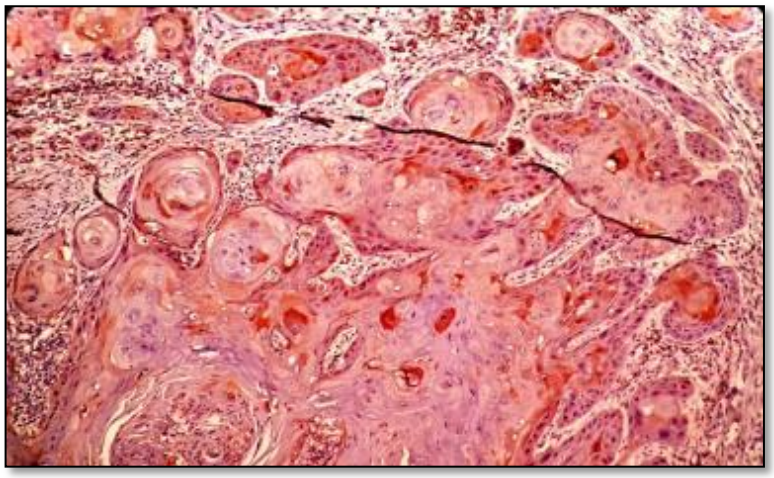
شكل (3-15) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 100 مرّة .



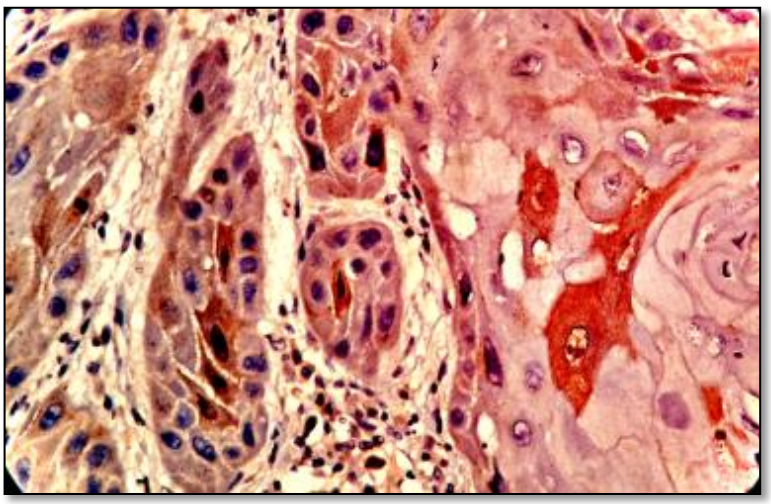
شكل (3-16) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي جَيِّد التمَايُز . تكبير 400 مرّة .



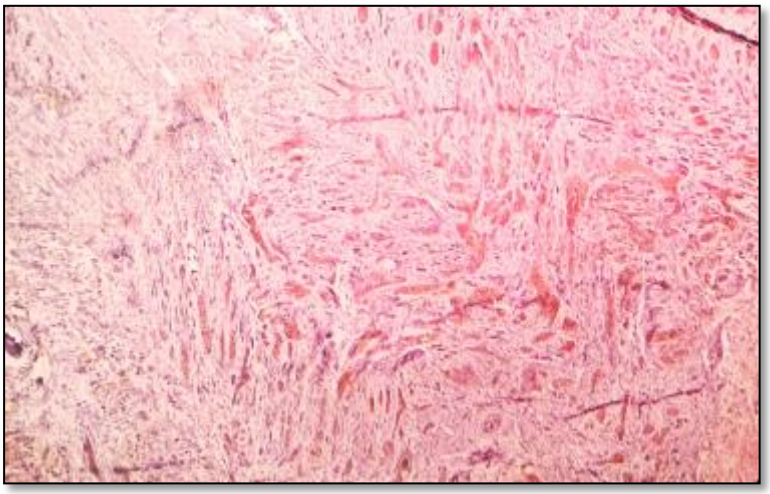
شكل (3–17) تعبيريّة ملوّن β–catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 40 مرّة .



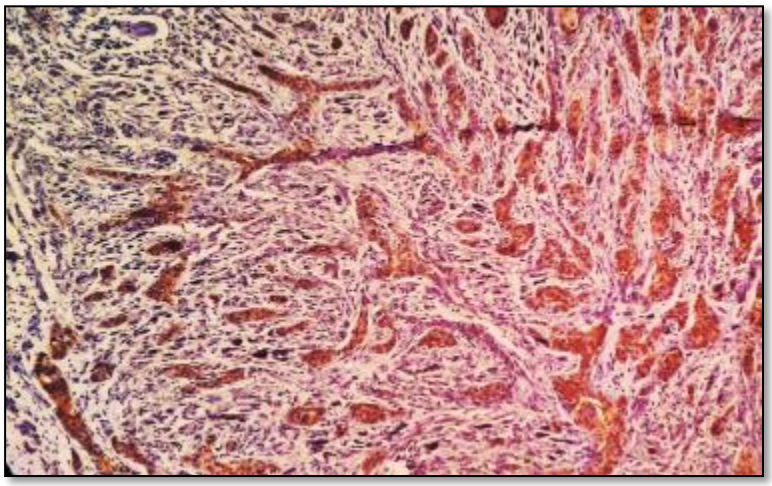
شكل (3–18) تعبيريّة ملوّن β–catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 100 مرّة .



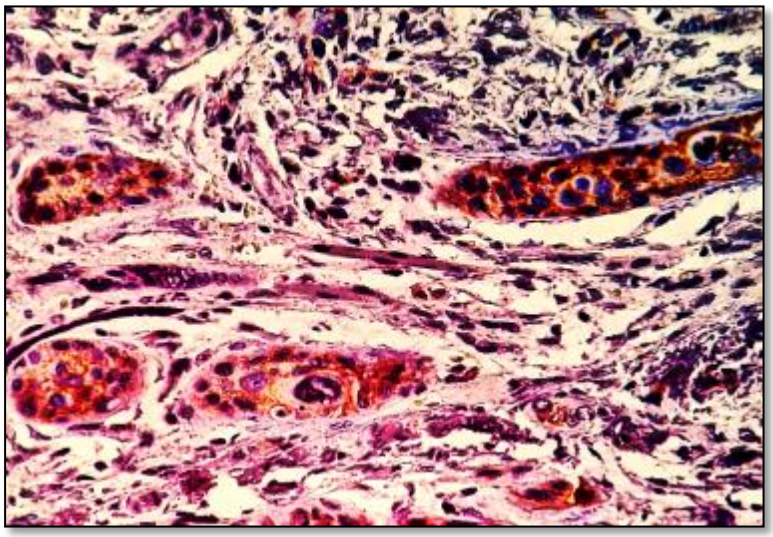
شكل (3–19) تعبيريّة ملوّن β–catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي متوسّط التمَايُز . تكبير 400 مرّة .



شكل (3-20) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 40 مرّة .



شكل (3-21) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 100 مرّة .



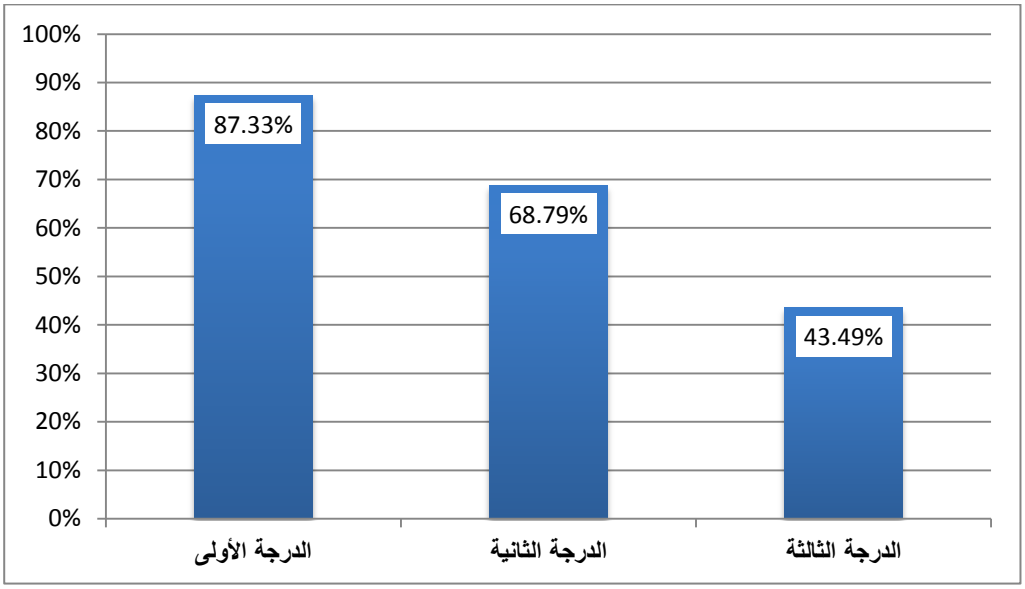
شكل (3-22) تعبيريّة ملوّن β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا الفموي ضعيف التمَايُز . تكبير 400 مرّة .

3-2-2-3: الدراسة الاحصائية لملوّن β-catenin

تمَّ حِساب نسبة الخلايا المتلوّنة لدى المرضى وهي الخلايا الشائِكة التي أبدت ايجابيّة تجاه الملوّن من أصل جميع خلايا الجزيرة الورميّة المدروسة ، و يتلخّص الإحصاء الوصفي لنسب الخلايا المتلوّنة في المجموعات الثلاث للعيّنة في الجدول التالي :

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	% 87.333	% 3.558	% 81.886	% 93.217
الدرجة الثانية	% 68.785	% 6.476	% 58.789	% 77.818
الدرجة الثالثة	% 43.492	% 15.599	% 25.772	% 71.141
كامل العيّنة	**% 67.155**	% 20.971	% 25.772	% 93.217

جدول (3-12) نسب الخلايا المتلونة بالـ β-catenin في عيّنة الدراسة



مُخطّط (3-8) متوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بالـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة

للتحقُّق من وجود فروق في متوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بين المجموعات الثلاث ، نُجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
51.426	* 0.000	**توجد فروق معنويّة إحصائيّاً**

جدول (3-13) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّطات نسب الخلايا المتلوّنة بالـ β-catenin

تبين نتائج الاختبار وجود فروق معنويّة إحصائيّاً في متوسّط النسب للخلايا المتلوّنة بين الدرجات الثلاث ، و لدراسة هذه الفروق بالتفصيل ، نجري اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثنى مثنى ، و يلخّص الجدول التالي النتائج :

المجموعتان المقارنتان		فرق المتوسّطات	مستوى الدلالة P.value
الأولى	**الثانية**	18.548	* 0.001
الأولى	**الثالثة**	43.841	* 0.000
الثانية	**الثالثة**	25.293	* 0.000

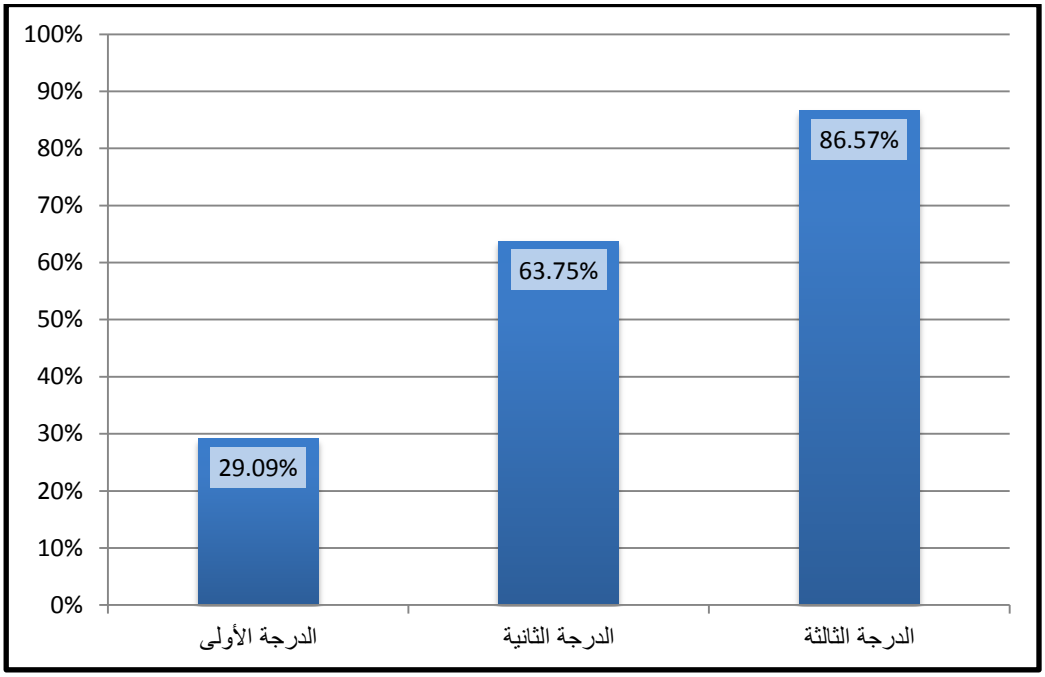
جدول (3-14) نتائج اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات الملوّنة بالـ β-catenin مثنى مثنى

نلاحظ وجود فروق معنويّة في متوسّطات نسب الخلايا المتلونة بين المجموعات الثلاث ، بحيث تتناقص هذه النسبة بزيادة درجة الإصابة ، و ذلك بثقة إحصائيّة 95 % .

كما تمّ حساب نسبة الشذوذ في خلايا عيّنة الدراسة ، و يتلخّص الإحصاء الوصفي لنسب الشذوذ في كل من المجموعات الثلاث في الجدول التالي :

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	% 29.087	% 6.048	% 15.622	% 38.746
الدرجة الثانية	% 63.746	% 8.229	% 51.709	% 74.471
الدرجة الثالثة	% 86.572	% 6.331	% 76.846	% 93.852
كامل العيّنة	% **58.647**	% 25.537	% 15.622	% 93.852

جدول (3-15) نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة



مخطّط (3-9) متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن β-catenin

للتحقّق من وجود فروق في متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة بين المجموعات الثلاث ، نجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
187.819	* 0.000	**توجد فروق معنويّة إحصائيّاً**

جدول (3-16) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّطات نسب الخلايا الشاذّة تجاه ملوّن β-catenin

تبين نتائج الاختبار وجود فروق معنويّة إحصائيّاً في متوسّط النسب للخلايا الشاذّة بين الدرجات الثلاث ، و لدراسة هذه الفروق بالتفصيل ، نجري اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثنى مثنى ، و يلخّص الجدول التالي النتائج :

المجموعتان المقارنتان		فرق المتوسّطات	مستوى الدلالة P.value
الأولى	**الثانية**	34.659	* 0.000
الأولى	**الثالثة**	57.486	* 0.000
الثانية	**الثالثة**	22.826	* 0.000

جدول (3-17) نتيجة اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات الملوّنة بالـ β-catenin مثنى مثنى

نُلاحظ وجود فروق معنويّة في متوسّطات نسب الخلايا الشاذّة بين المجموعات الثلاث ، بحيث تَتَزايد هذه النسبة بزيادة درجة الإصابة ، و ذلك بثقة إحصائيّة 95 % .

كما يُلخّص الجدول التالي الإحصاء الوصفي للتعبيريّة الهيولية لملوّن β-catenin في العيّنة المدروسة :

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	16.963	3.926	8.839	22.396
الدرجة الثانية	29.094	5.073	21.418	34.930
الدرجة الثالثة	24.709	9.110	15.034	39.262
كامل العيّنة	23.589	8.020	8.839	39.262

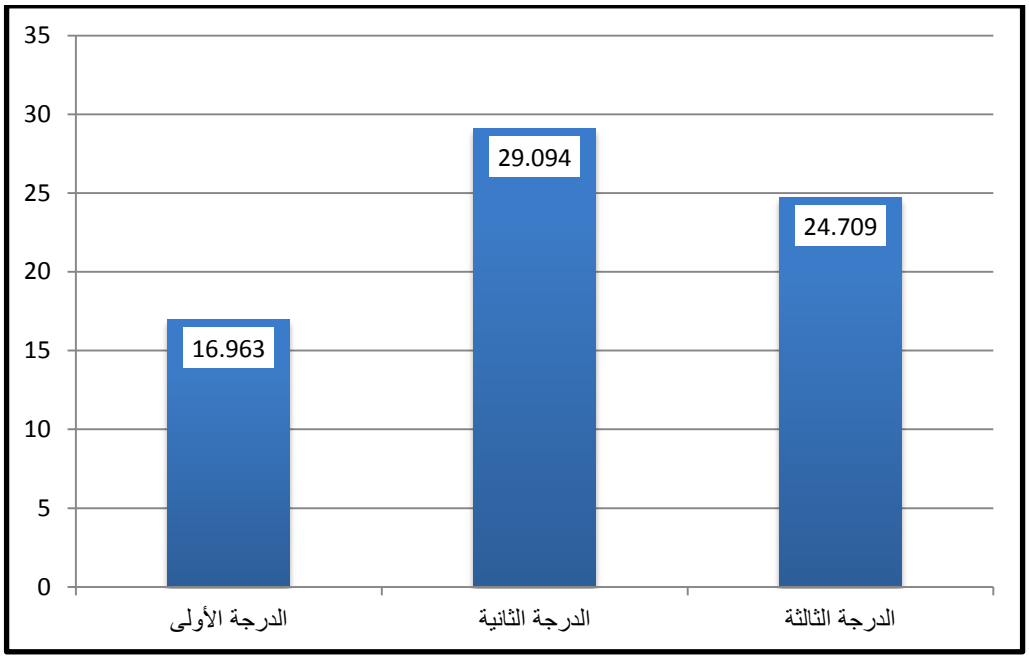
جدول (3-18) متوسّط نسب التعبيريّة الهيولية لـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة

للتحقُّق من وجود فروق في متوسّطات التعبيريّة الهيوليّة بين المجموعات الثلاث ، نُجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
8.206	0.002 *	**توجد فروق معنويّة إحصائيا**

جدول (3-19) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لمتوسّطات التعبيريّة الهيوليّة لـ β-catenin

يتبيّن من نتائج الاختبار ، و بثقة 95% ، وجود فروق دالّة معنويّة في الهيولى بين المجموعات الثلاث .



مخطّط (3-10) متوسّطات نسب التلوّن الهيولي للـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة

نجري اختبار توكي للتعرف على الفروق بالتفصيل ، فنجد ما يلي :

المجموعتان المقارنتان		فرق المتوسّطات	مستوى الدلالة P.value
الأولى	الثانية	12.131	0.001 *
الأولى	الثالثة	7.746	0.044 *
الثانية	الثالثة	-4.385	0.334

جدول (3-20) نتيجة اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات الملوّنة بالـ β-catenin مثنى مثنى

توجد فروق معنويّة بين المجموعة الأولى و بين كل من المجموعتين الثانية و الثالثة .

كما دُرست تعبيريّة الملوّن في النواة بالنسبة في المجموعة الملوّنة بالـ β-catenin وتتلخّص النتائج في الجدول التالي:

المجموعة	المتوسّط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الدرجة الأولى	0.187	0.133	0	0.339
الدرجة الثانية	3.437	1.699	1.129	5.853
الدرجة الثالثة	6.404	2.036	4.429	9.403
كامل العيّنة	3.342	2.977	0	9.403

جدول (3-21) متوسّط نسب التعبيريّة النووية لـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة

للتحقق من وجود فروق في التعبيريّة النووية بين المجموعات الثلاث ، نجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخّص النتائج كما يلي :

إحصاء الاختبار F	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
37.045	* 0.000	**توجد فروق معنويّة إحصائيّاً**

جدول (3-22) نتيجة اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA لفروق التعبيريّة النووية

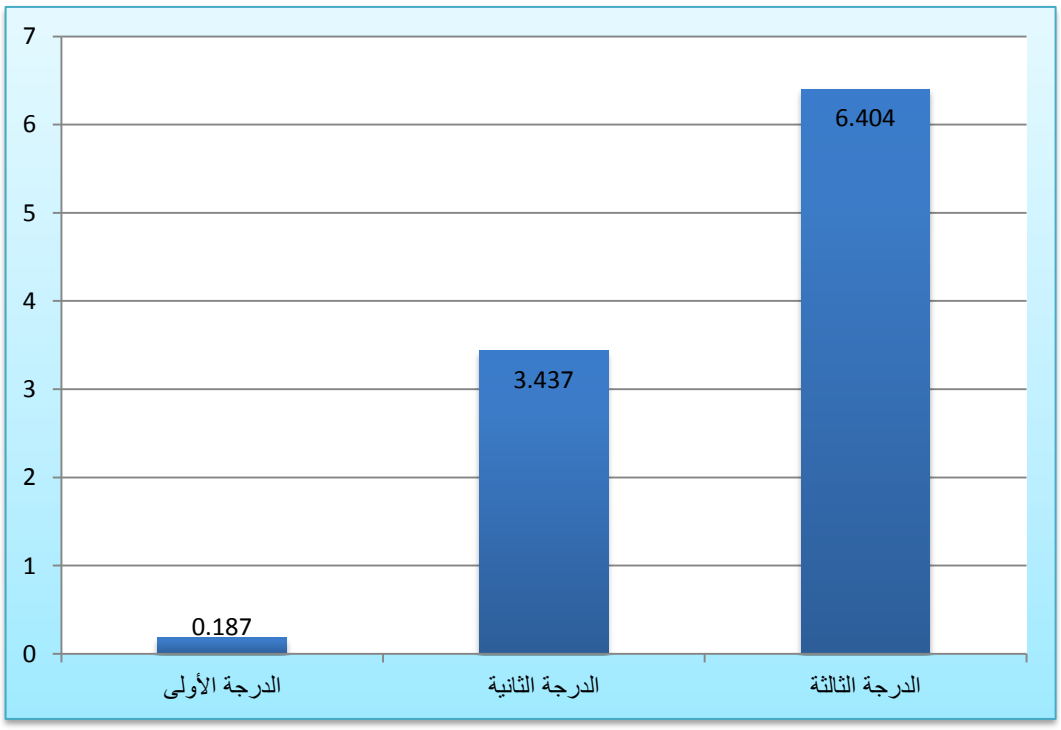
تبين نتائج الاختبار وجود فروق معنويّة إحصائيّاً في التعبيريّة النووية للملوّن بين الدرجات الثلاث ، و لدراسة هذه الفروق بالتفصيل ، نجري اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثنى مثنى ، و يلخّص الجدول التالي النتائج :

المجموعتان المقارنتان		فرق المتوسّطات	مستوى الدلالة P.value
الأولى	**الثانية**	3.249	* 0.000

الأولى	الثالثة	6.217	* 0.000
الثانية	الثالثة	2.967	* 0.001

جدول (3-23) نتائج اختبار Tukey لدراسة فروق التعبيريّة النووية لملوّن β-catenin بين المجموعات مثنى مثنى

نلاحظ وجود فروق معنويّة في التعبيريّة النووية بين المجموعات الثلاث ، بحيث تتزايد بزيادة درجة الإصابة ، و ذلك بثقة إحصائيّة 95 % .



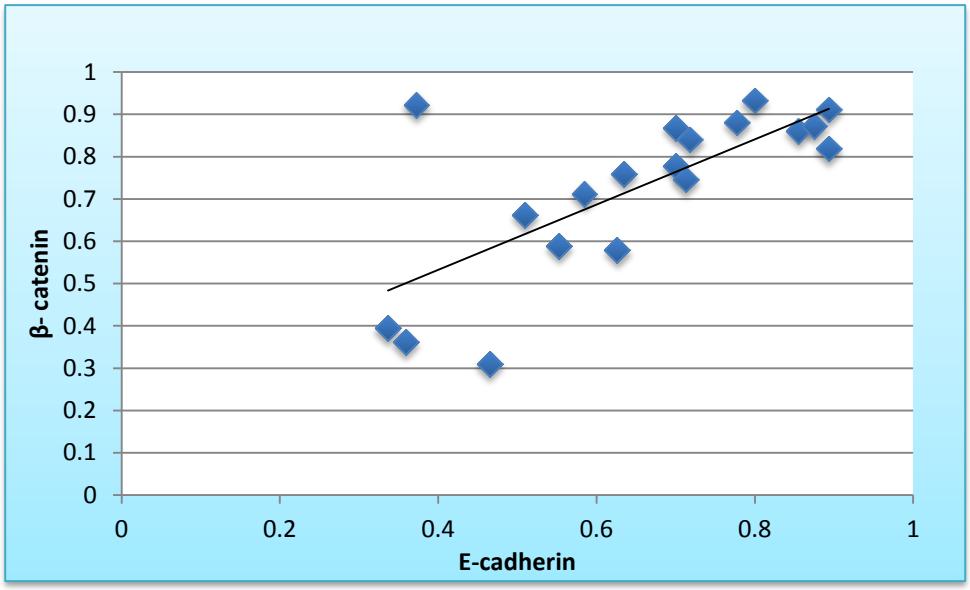
مخطّط (3-11) متوسّطات نسب التلوّن النووي للـ β-catenin في مجموعات عيّنة الدراسة

3-2-3: دراسة العلاقة بين تعبيريّة الملوّنين :

لدراسة العلاقة بين تعبيريّة E-cadherin و بين تعبيريّة β-catenin ، نحسب معامل ارتباط بيرسون ، و تتلخّص النتائج في الجدول التالي :

مستوى الدلالة	قيمة معامل الارتباط
P.value	ρ
* 0.001	0.716

جدول (3-24) حساب قيمة معامل ارتباط بيرسون لتعبيريّة الملوّنين



مخطّط (3-12) العلاقة بين تعبيريّة ملوّني E-cadherin و β-catenin

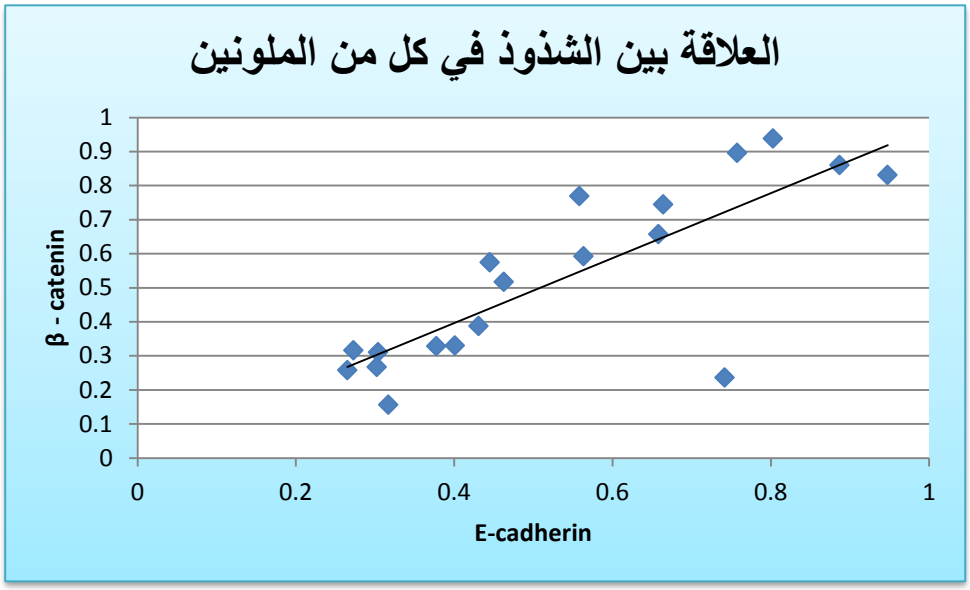
نلاحظ من النتائج و بثقة 95 % وجود علاقة ارتباط ايجابيّة قويّة بين تعبيريّة E- cadherin و بين تعبيريّة β – catenin ، بحيث تترافق زيادة أحدهما بزيادة الآخر و العكس بالعكس .

أيضا لدراسة العلاقة بين الشذوذ في تعبيريّة E-cadherin و بين الشذوذ في تعبيريّة β- catenin ، نحسب معامل ارتباط بيرسون ، و تتلخّص النتائج في الجدول التالي :

مستوى الدلالة	قيمة معامل الارتباط

P.value	ρ
* 0.000	0.808

جدول (3-25) حساب قيمة معامل ارتباط بيرسون لنسب الشذوذ في الملوّنين



مخطّط (3-13) العلاقة بين الشذوذ في تعبيريّة ملوّني E-cadherin و β-catenin

نلاحظ من النتائج و بثقة 95 % وجود علاقة ارتباط ايجابيّة قويّة بين الشذوذ في تعبيريّة E-cadherin و بين الشذوذ في تعبيريّة β-catenin ، بحيث تترافق زيادة أحدهما بزيادة الآخر و العكس بالعكس .

الباب الرابع : المُنَاقَشَة

Discussion

تمَّ إجراء البحث بهدف تحرّي تعبيريّة بروتيني E-cadherin و β-catenin اللذان يعدّان من الواسِمات الرئيسيَّة لعمليّة التحوّل الظهاري الميزانشيمي ، وهي العمليّة التي تُمثِّل المرحلة الأولى من مراحل الغزو و الاستِعمار في السَرَطانات البشرويّة ، حيثُ أنها تُحرّر الخليّة من ارتباطاتها ضمن النسيج لتُهاجر إلى مواقع أخرى في الجسم .

يُعدُّ هذان البروتينان جزءاً رئيسيّاً من معقّد E-cadherin/catenins الذي يلعب دوراً محوريّاً في الارتباط بين الخلايا الظهاريّة المتجاورة و بين الخلايا و القالب خارج الخلوي وهو أمر أساسي لإحداث النمط الظاهري للأنسجة لدى الأجنّة ، وفي الحفاظ على البنية المعقّدة للأنسجة المتمَايُزة لدى البالغين.(Wijnhoven et al., 2000) إذ يؤدّي فَقد الارتباط بين الخلايا إلى خسارة التثبيط التلامسي لتكاثُرها، مايسمح لها بالهروب من سيطرة إشارات النمو، ويُطلق عمليّة التشكّل الورمي الخبيث.(Piepenhagen and Nelson, 1993)

يشكّل السَرَطان شائِك الخلايا في منطقة الرأس والعنق مايزيد عن 90% من خباثات هذه المنطقة التشريحيّة ، وهو من التنشّؤات الورميّة الظهاريّة العدوانيّة التي تميل إلى الاستعمار المبكّر و الشديد . (Thompson, 2006)

هدفت هذه الدراسة الاستعاديّة إلى مُقارنة تعبيريّة الملوّن الكيميامناعي النسيجي لـ E-cadherin و الـ β-catenin في السَرَطان شائِك الخلايا لمنطقة الرأس والعنق بمختلف درجاته النسيجيّة، وذلك في عيّنة مكونة من 33 خزعة مأخوذة من الكتلة الورميّة الأوليّة لمرضى لم يخضعوا لمعالجة كيميائيّة أو شعاعيّة سابقة ، توزّعت العيّنة في ثلاث مجموعات وفقاً للدرجة النسيجيّة للسرطان ، وتمَّت دراسة نسبة تعبيريّة كلا الملوّنين و مكان تموضعهما

في كل درجة حيثُ أنّ التعبيريّة الهيوليّة أو النوويّة أو انعدام التعبيريّة لأي من الواسمين في الخلايا الشائِكة تُعد من المظاهر الشاذّة (Hajra and Fearon, 2002) . تم اجراء التلوين المناعي المفرد لكل ملوّن على حدى باستعمال أضداد وحيدة النسيلة لكل من البروتينين ، وذلك لكون التلوين المفرد أقل كلفة وأسهل تطبيقاً .

صُوِّرت الساحات النسيجيّة الحاوية على الجزر الورميّة الغازية ، وعولجت الصور حاسوبيّاً لزيادة تباين الألوان فيها وتمّ عد الخلايا يدويّاً للحصول على النتائج .

4-1 : الكادهيرين الظهاري E-cadherin

هو غليكوبروتين مُعتمد على الكالسيوم ، يَنتشِر على نطاق واسِع في الخلايا الظهاريّة . يتواسَط بشكل أساسي الارتباط بين الخلايا المُتجانسة و يُحافظ على الهيكل الخلوي والتكَامُل البنيوي و القطبيَّة الظهاريّة .

أشارت العديد من الدراسات إلى أنّ الكادهيرين الظهاري يقوم بدور الكابِح الورمي ، حيثُ أنّهُ يكبح الغزو و الاستعمار في العديد من الأورام.(Takeichi, 1993) وتتنوّع آليَّات تثبيط هذا البروتين لتشمل فُقدان تماثُل اللواقِح في الصبغيات و الطفرات المخمِّدة لمورِّثته و الكبح الانتساخي و تبادُل الكادهيرين والإلتقام الخلوي والعمليّات الحالّة للبروتين.(Kudo et al., 2004)

وُجِد في مُجمل الحالات المدروسة بأنَّ قُرابة 61% من الخلايا الموجودة في الجُزر الورميّة قد أبدَت إيجابيَّةً تجاه الملوّن وهذا يتوافق مع دراسة (Palomares et al., 2012) الذي وَجد

التعبيريّة المرتفعة للملوّن في 54 % من الحالات و(Liu et al., 2010) الذي وجدها في 58% من الحالات .

وفيما يتعلّق بالدرجات النسيجيَّة للورم وجَدْنا ايجابيّةً للملوّن بنسبة 82% من الخلايا في الحالات جَيِّدة التمَايُز من الورم، و 61% في الحالات متوسّطة التمَايُز، 39% في الحالات ضعيفة التمَايُز، وكانت هُناك علاقة واضِحة بين الدرجة النسيجيّة للورم و تعبيريّة الملوّن ، اتفقنا بذلك مع (Rosado et al., 2013) و مع (Chow et al., 2001) في السَرَطان شائِك الخلايا للسان و (Lopes et al., 2009) ومع (Downer and Speight, 1993) ومع (Zhai et al., 2010) الذي درَس تعبيريَّة الملوِّن في السَرَطان شائِك الخلايا للمري ، لكنّنا اختلفنا مع (Liu et al., 2010) الذي لم يَجد ارتباطاً بين التعبيريّة و الدرجة النسيجيّة ، وقد يكون سبب الاختلاف عائداً إلى نوع الضدّ الأولي حيث قام باستخدام ضد وحيد النسيلة مأخُوذ من الماعز في حين قُمنا باستِخدام ضد أرنبي ، أو المعايير المتّبعة في تقييم الملوّن المناعي حيث قام بتصنيف شدّة التلوّن في ثلاث مجموعات ثمّ قامَ بضرب شدّة التلوّن مع نسبة الخلايا المتلوّنة دونَ أن يكون هناك تعريف مُحدّد لِنَقص أو فَرط التعبيريّة ، في حين قُمنا في دراستنا بعدّ الخلايا بشكل مباشر ، كما اختلفنا مع (Rodrigo et al., 2007) الذي لم يجد ارتباطاً مع الدرجة النسيجيّة بعد أن درس تعبيريّة الملوّن في السَرَطان شائِك الخلايا للحنجرة ، قد يكون سبب الاختلاف عائِداً إلى الموقع التشريحي للورم حيث أنَّه من المُمكن أن يَختلف سُلوك الورم حسْبَ موقِعه ضمن نَفس المنطقة التشريحيّة .

لاحظنا انخفاضاً في الإيجابيّة بالنسبة إلى الملوّن مُتناسِباً مع زيادة الدرجة النسيجيّة، حيث انخفضت نِسبة الخلايا التي تُعبِّر عَنه كلّما اتجهنا نحو ضعف التمَايُز، ويمكن أن نعزو انخفاض تعبيريّة الملوّن في الدرجة ضعيفة التمَايُز إلى فُقدان بروتين الكادهيرين الظهاري لدوره في الارتباط الخلوي وزيادة التهتّك الغشائي للخلايا في الأورام الأكثر عدوانيّة ، حيث أنّ فَقده أو نَقصه يسهِّل عمليَّة انفصال الخلايا الورميَّة تَمهيداً لدخُولها في شلّال الغزو و الاستِعمار . إنَّ هذا الارتباط الواضح بين ازدياد الدرجة النَسيجيّة للورم و انخفاض تعبيريّة الملوّن يدعم دورَهُ كواسِم إنذاري في حالات السَرَطان شائِك الخلايا للرأس والعنق، ويُشير إلى ازدياد النشاط الانقسامي في الخلايا الورميّة و قابليّة الآفة للغزو .

أبدى بروتين E-cadherin شذوذاً في 58.2% من الخلايا وكان أكثر شذوذاً في الدرجة الثالثة بنسبة 84.1% ثمّ الدرجة الثانية بنسبة 59% وفي 31.5% من خلايا الدرجة الأولى ، وكانت الفروق ذات دلالة احصائيّة . تتوافق هذه النتائج مع (Faleiro-Rodrigues and Lopes, 2004) حيث لوحظ الشذوذ في 89% من السَرَطانات الغازية شائِكة الخلايا في منطقة عنق الرحم ومع (Sun et al., 2000) الذي وجد الشذوذ في 53.3%.

ولم تتوافق نتائج هذه الدراسة مع (Fadare et al., 2005) الذي وجد التعبيريّة الشاذّة بنسبة 86.5% و لم يجد فروقاً بين الدرجات النسيجيّة في سرطانات عنق الرحم ، ربما يعود سبب الخلاف إلى اختلاف المنطقة التشريحيّة المدروسة .

لُوحِظت تعبيريّة الملوّن في الهيولى في 19.5% من مُجمل الخلايا الورميّة للعيّنة ، ولم تَظهر فروق دالّة احصائيّاً بين الدرجات النسيجيّة الثلاث وهذا يتوافق مع دراسة (Do et al.,

2004) ومع (Fadare et al., 2005) وهذا يشير إلى أن بروتين E–cadherin لا يلعب دوراً مباشراً في العمليّة الورميّة ، بل يقتصر دوره على ربط الخلايا الظهاريّة ببعضها لبعض و تثبيط تكاثرها .

2-4 : البيتا كاتينين β –catenin

يُعتبر بروتين β–catenin من العناصر الرئيسيّة التي تدخُل في تكوين معقّد الارتباط المكوّن من الكادهيرين الظهاري و الكاتينينات، حَيثُ يلعبُ دَوراً مزدوجاً كبروتين بنيوي في الموصِلات الملتصِقة بين الخلويّة (Potter et al., 1999)، وكمفعِّل انتساخي يتواسط نقل الإشارات في سبيل Wnt. (Queimado et al., 2008 ,Shapiro, 2001 ,)

يَتَرافق التغيُّر أو النقص في تعبيريّة β–catenin مع فُقدان التمَايُز واكتساب الخلايا للنمط الظاهري الغازي. ويُمكن رد مثل هذه التغيّرات في التعبيريّة إلى الطفرات المورثيّة في مورّثته أو إلى الطفرات في مورّثات الـ Axin و APC المسؤولين عن تدرّك الـ β–catenin في الهيولى (Kannan et al., 2002) ، يَنتقِل الـ β–catenin المُتراكم في الهيولى إلى النواة حيث يرتبط إلى عامل انتساخ اللمفيّات التائيّة (Tcf) ويُفعِّل مورّثات مُحدّدة تؤدّي إلى زيادة مُعدّل تكاثُر الخليّة و الخباثة . يؤدّي ذلك لاحقاً إلى عدم قدرتِه على الارتباط مع الكادهيرين الظهاري.(Hinck et al., 1994 ,Zhurinsky et al., 2000 ,)

لاحَظت العديد من الدراسات أنّ هناك ارتباطاً بين تغيّر أو نقص تعبيريّة β–catenin والدرجة النسيجيّة إضافةً إلى ارتباطِه مع النمط الظاهري الغازي في الخلايا الورميّة و الإنذار وزيادة احتمال الغزو و الاستعمار.(Young et al., 1998, Wong and Pignatelli, 2002 ,

(Olmeda et al., 2003) ، كما لُوحِظَ انخفاض تعبيريّته في سرطانات المري والكولون والمعدة والثدي والبروستات إضافة إلى الفم. (Bagutti et Takayama et al., 1996 , al., 1998, Kallakury et al., 2001)

وُجد في مجمل الحالات المدروسة بأنّ قرابة 67% من الخلايا الموجودة في الجزر الورميّة قد أبدَت إيجابيّة تجاه الملوّن، وهذا يتوافق مع دِراسة (Williams et al., 1998) و (Bagutti et al., 1998) اللذين أشارا إلى إيجابيّة بنسبة 66% و 68.2% على التوالي و مع (Fadare et al., 2005) الذي وجد تعبيريّة بنسبة 66.7% .

، كما أشار Gao et al إلى نسبة عالية من الايجابيّة وصلت إلى 80%.(Gao et al., 2005) واشارت دراسة Laxmidivi et al إلى نسبة أقل من 56.6%.(Laxmidevi et al., 2010)

وُجِدَ في هذه الدِراسة بأنَّ 33% من الحالات لم تعبّر فيها خلايا الجزر الورميّة عن بروتين البيتا–كاتينين، وهذا يماثل ما أشير اليه من قبل William et al 33.3% (Williams et al., 1998) و Bagutti et al 31.8% (Bagutti et al., 1998)، لكنّنا اختلفنا مع (Gasparoni et al., 2002) الذي لم يُشِر إلى أي حالة سلبيّة ، هذا الاختلاف يمكن ردّه إلى اختلاف طريقة تثبيت الخزعة ، حيث قام بدراسته على مقاطع مجمّدة واعتَمد طريقة التلوين المناعي المُضاعَف .

فيما يتعلق بالدرجات النسيجيّة للورم كان هناك ارتباط واضح بين الدرجة النسيجيّة وتعبيريّة الملوّن اذ وجدنا ايجابيّة للملوّن بنسبة 87% في خلايا الحالات جَيِّدة التمَايُز من الورم، و

68% في الحالات متوسّطة التمَايُز، و43% في الحالات ضعيفة التمَايُز. تتوافق هذه النتائج مع دراسة Ueda et al الذي أشار إلى النسب التالية 80% و 66% و 40% على التوالي،(Ueda et al., 2006) ومع Laxmidivi et al الذي اشار إلى النسب التالية 100% و 40% و 30%.(Laxmidevi et al., 2010) ، لكنّنا اختلفنا مع (Fadare et al., 2005) الذي لم يجد فروقاً بين الدرجات النسيجيّة في سرطانات عنق الرحم ، ربما يعود سبب الخلاف إلى اختلاف المنطقة التشريحيّة المدروسة .

لاحظنا انخفاضاً في الايجابيّة بالنسبة إلى الملوّن مُتناسباً مع زيادة الدرجة النسيجيّة، حيثُ انخفضَت التعبيريّة كلَّما اتجهنا نحو ضعف التمَايُز، ويمكن أن نعزو انخفاض تعبيريّة الملوّن في الدرجة ضعيفة التمَايُز إلى فقدان بروتين β–catenin لدوره في الارتباط الخلوي والخلل البنيوي و الوظيفي الذي يطرأ عليه في الأورام الأكثر عدوانيّة. هذا الارتباط الواضح بين ازدياد الدرجة النسيجيّة للورم و انخفاض تعبيريّة الملوّن يدعم دوره كواسِم انذاري في حالات السَرَطان شائِك الخلايا للرأس و العنق ، ويُشير إلى ازدياد النشاط الإنقسامي في الخلايا الورميّة و قابليّة الآفة للغزو .

أما فيما يتعلّق بتعبيريّة الملوّن في الهيولى فقد شوهدت في 23.5% من الخلايا وقد توزّعت النسب بين الدرجات إلى 16.9% في الدرجة الأولى و 29% في الثانية و 24.7% في الثالثة وقد وُجدت الفروق الدالّة بين الدرجتين الأولى الثانية و الأولى و الثالثة . اختلفت هذه الدراسة

جزئياً مع (Do et al., 2004) الذي لم يجد ارتباطاً للتعبيريّة الهيوليّة مع الدرجة النسيجيّة ربما يعود الاختلاف إلى اعتِمادِه طريقة التلوين المزدوج بالتألُّق المناعي .

على مستوى النواة لوحظت تعبيريّة الملوّن في 3.3% من مجمل الخلايا الورميّة ، وكانت الفروق دالّة معنويّاً بين الدرجات الثلاث بحيث تزداد التعبيريّة النوويّة بزيادة الدرجة النسيجيّة ، كانت هذه النتيجة قريبة من (Do et al., 2004) الذي وجدها بنسبة 2% لكنّه لم يجد فروقاً بين الدرجات النسيجيّة ، و (Pukkila et al., 2001) الذي وجد إيجابيّة للتعبيريّة النوويّة في 23% من خلايا السرطانات الشائِكة في البلعوم وكانت تلك التعبيريّة مرتبطة بشكل واضح مع معدّل البقاء , لكنّها لم تكن مرتبطة مع الدرجة النسيجية .

4-3 : العلاقة بين تعبيريّة كلا الملوّنين

في هذه الدراسة ، كانت تعبيريّة β-catenin شاذّة عندما تكون تعبيريّة E-cadherin شاذّة ، كما أنَّ تعبيريّة β-catenin كانت طبيعيّة عندما تكون تعبيريّة E-cadherin طبيعيّة ، ولاحظنا أن تعبيريّة أحدهما تزداد بازدياد تعبيريّة الآخر والعكس بالعكس .

تتوافق هذه النتيجة مع (Do et al., 2004) ومع (Rosado et al., 2013) و (Liu et al., 2010) واختلفنا مع (Fadare et al., 2005) الذي أجرى دراسته على سرطانات عنق الرحم .

إن بروتينات E-cadherin و β-catenin ترتبط بشكل مباشر لذا فإن الشذوذات في هذه البروتينات تؤثّر على الارتباط بين الخلايا الورميّة. وعندما لا يعمل مكوّن واحد من مكوّنات

المعقّد E-cadherin / β-catenin بالشكل المناسب تتأثّر وظائف المعقّد بشكل كبير و تؤثّر على العديد من المشعرات السريريّة النسيجيّة (Van Aken et al., 1993)

و يُفَسرُ ذلك بأنّ اعتلال الـ E-cadherin أو فُقدانه يؤدّي إلى زيادة انحلال الـ β-catenin المرتبط به في العصارة الخلويّة ، لكن سبيل Wnt/ β-catenin يتفعّل فقط عندما يحصل تغيُّر في تدرّك الـ β-catenin ، لذلك يعتقد بأنّ انخفاض تعبيريّة الـ E-cadherin تعود بشكل واضح إلى انخفاض تعبيريّة الـ β-catenin . تحدُث عمليّة التدرُّك هذِه في المعقّد المكوّن من الـ Axin و الـ APC (Hart et al., 1999) . وهذا مايفسّر سبب فقدان الخليّة لارتباطها عندما تطرأ طفرة في مورّثة β-catenin حتى عندما تكون تعبيريّة E-cadherin طبيعيّة وذلك في سلالة خلايا سرطان المعدة (Oyama et al., 1994) .

الباب الخامس: الاستِنتاجات

conclusions

ضمن حدود هذا البحث :

تبيّن بأنّ تعبيريّة بروتيني β–catenin و E–cadherin يمكن أن تمثّل واسماً انذاريّاً للسرطان شائِك الخلايا للرأس والعنق ، وهذه التعبيريّة ترتبط ارتباطاً وثيقاً مع الدرجة النسيجيّة للورم ومع تمَايُزه النسيجي وهو ما يفسّر قدرة الدرجات العالية من الورم على الغزو و الاستعمار نتيجة تحرّر الخليّة الورميّة من ارتباطاتها . كذلك ترتبط تعبيريّة كل من البروتين ببعضها البعض زيادةً وانخفاضاً .

لم نجد ارتباطاً بين موقع تعبيريّة بروتين E–cadherin والدرجة النسيجيّة ، وهذا يُشير إلى أنَّه لا يلعبُ دوراً مباشراً في العمليّة الورميَّة ، على عكس بروتين β–catenin الذي ارتبط ارتفاع تعبيريِّته في النواة مع الدرجات النسيجية الأقل تمايزاً .

الباب السادس : المُقترحات والتوصِيات

Suggestions and Recommendations

6-1 : المقترحات

1- نقترح إجراء توثيق دقيق وشامل لجميع حالات السَرَطان في مشافي القطر وفق المعايير العالميّة المتّبعة في ذلك ، وخاصّة تسجيل الدرجة السريريّة (تصنيف TNM) ومتابعة حالة المرضى وتسجيل حالات النكس بعد المعالجة والوفيات الناجمة عن المرض للتمكّن من إجراء الدراسات الوبائيّة والتمكن من ربط المعطيات النسيجيّة مع السريريّة وإنذار المريض .

2- إجراء المزيد من الدراسات على واسمات التحوّل الظهاري الميزانشيمي لتحرّي دورها في السَرَطان شائِك الخلايا في منطقة الرأس والعنق ، واستخدام التقنيّات المختلفة وخصوصاً التي تمتاز بدقّتها ونوعيّتها.

3- إجراء تحليل لتعبيريّة بروتيني E-cadherin و β-catenin في الآفات قبيل السَرَطانيّة و السَرَطانات غير ظهاريّة المنشأ .

4- إجراء دراسة لتعبيريّة البروتينين في كل منطقة تشريحيّة من مناطق الرأس والعنق على حدى .

6-2 : التوصيات

نوصي ضمن حدود هذا البحث باعتبار واسمي التحوّل الظهاري الميزانشيمي E-cadherin و β-catenin كواسمين إنذاريّين للدرجة النسيجيّة للسرطان شائِك الخلايا في منطقة الرأس و العنق .

الباب السابع : المَراجع

References

ABERLE, H., BIERKAMP, C., TORCHARD, D., SEROVA, O., WAGNER, T., NATT, E., WIRSCHING, J., HEIDKAMPER, C., MONTAGNA, M., LYNCH, H. T. & ET AL. 1995. The human plakoglobin gene localizes on chromosome 17q21 and is subjected to loss of heterozygosity in breast and ovarian cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 92**,** 6384-8.

ABREU, L., KRUGER, E. & TENNANT, M. 2009. Lip cancer in Western Australia, 1982-2006: a 25-year retrospective epidemiological study. *Aust Dent J,* 54**,** 130-5.

ACLOQUE, H., ADAMS, M. S., FISHWICK ,K., BRONNER-FRASER, M. & NIETO, M. A. 2009. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest,* 119**,** 1438-49.

ALBERTS B, J. A., LEWIS J, ET AL. 2002. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. New York: Garland Science; 2002. Cell Junctions. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26857#/.

ALNOUR, A. 2012. The Role of Nutrition in the Etiology of Mucosal Carcinomas

ANDREWS, N. A., JONES, A. S., HELLIWELL, T. R. & KINSELLA, A .R. 1997. Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases. *Br J Cancer,* 75**,** 1474-80.

BAGUTTI, C., SPEIGHT, P. M. & WATT, F. M. 1998. Comparison of integrin, cadherin, and catenin expression in squamous cell carcinomas of the oral cavity. *J Pathol,* 186**,** 8-16.

BALAGOPAL, P. G., GEORGE, N. A., VENUGOPAL, A., MATHEW, A., AHAMED, M. I. & SEBASTIAN, P. 2012. Tobacco related habits among first degree relatives of patients undergoing surgery for advanced head and neck malignancies in India. *Asian Pac J Cancer Prev,* 13**,** 217-20.

BARNES, L., EVESON, J. W., REICHART, P., SIDRANSKY, D. & INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. 2005. *Pathology and genetics of head and neck tumours,* Lyon, IARC.

BARRALLO-GIMENO, A. & NIETO, M. A. 2005. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer. *Development,* 132**,** 3151-61.

BERX, G. & VAN ROY, F. 2009. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol,* 1**,** a003129.

BONGIORNO, P. F., AL-KASSPOOLES, M., LEE, S. W., RACHWAL, W. J., MOORE, J. H., WHYTE, R. I., ORRINGER, M. B. & BEER, D. G. 1995. E-cadherin expression in primary and metastatic thoracic neoplasms and in Barrett's oesophagus. *Br J Cancer,* 71**,** 166-72.

BOYER, B., VALLES, A. M. & EDME, N. 2000. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol,* 60**,** 1091-9.

CAWSON, R. A. & ODELL, E. W. 2008. *Cawson's essentials of oral pathology and oral medicine,* Edinburgh ; New York, Churchill Livingstone.

CHOW, V., YUEN, A. P., LAM, K. Y., TSAO, G. S., HO, W. K. & WEI, W. I. 2001. A comparative study of the clinicopathological significance of E-cadherin and catenins (alpha ,beta, gamma) expression in the surgical management of oral tongue carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol,* 127**,** 59-63.

CLEVERS, H. 2006. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell,* 127**,** 469-80.

COGHLIN, C. & MURRAY, G. I. 2010. Current and emerging concepts in tumour metastasis. *J Pathol,* 222**,** 1-15.

CURADO, M. P. & BOYLE, P. 2013. Epidemiology of head and neck squamous cell carcinoma not related to tobacco or alcohol. *Curr Opin Oncol,* 25**,** 229-34.

DO, N. Y., PARK, S. Y. & LIM, S. C. 2004. The role of E-cadherin/beta-catenin complex and cyclin D1 in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res Treat,* 36**,** 72-8.

DOWNER, C. S. & SPEIGHT, P. M. 1993. E-cadherin expression in normal, hyperplastic and malignant oral epithelium. *Eur J Cancer B Oral Oncol,* 29B**,** 303-5.

DU, J., SUN, B., ZHAO, X., GU, Q., DONG, X., MO, J., SUN, T., WANG, J., SUN, R. & LIU, Y. 2014. Hypoxia promotes vasculogenic mimicry formation by inducing epithelial-mesenchymal transition in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*.

EKBLOM ,P. 1996. Genetics of kidney development. *Curr Opin Nephrol Hypertens,* 5**,** 282-7.

FADARE, O., REDDY, H., WANG, J., HILEETO, D., SCHWARTZ, P. E. & ZHENG, W. 2005. E-Cadherin and beta-Catenin expression in early stage cervical carcinoma: a tissue microarray study of 147 cases. *World J Surg Oncol,* 3**,** 38.

FALEIRO-RODRIGUES, C. & LOPES, C. 2004. E-cadherin, CD44 and CD44v6 in squamous intraepithelial lesions and invasive carcinomas of the uterine cervix: an immunohistochemical study. *Pathobiology,* 71**,** 329-36.

FIDLER, I. J. & POSTE, G. 2008. The "seed and soil" hypothesis revisited. *Lancet Oncol,* 9**,** 808.

FRITSCH, V. A. & LENTSCH, E. J. 2014. Basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck: Location means everything. *J Surg Oncol,* 109**,** 616-22.

GALL, T. M & .FRAMPTON, A. E. 2013. Gene of the month: E-cadherin (CDH1). *J Clin Pathol,* 66**,** 928-32.

GAO, S., EIBERG, H., KROGDAHL, A., LIU, C. J. & SORENSEN, J. A. 2005. Cytoplasmic expression of E-cadherin and beta-Catenin correlated with LOH and hypermethylation of the APC gene in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med,* 34**,** 116-9.

GASPARONI, A., CHAVES, A., FONZI, L., JOHNSON, G. K., SCHNEIDER, G. B. & SQUIER, C. A. 2002. Subcellular localization of beta-catenin in malignant cell lines and squamous cell carcinomas of the oral cavity. *J Oral Pathol Med,* 31**,** 385-94.

GUILFORD, P., HOPKINS, J., HARRAWAY, J., MCLEOD, M., MCLEOD, N., HARAWIRA, P., TAITE, H., SCOULAR, R., MILLER, A. & REEVE, A. E. 1998. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer .*Nature,* 392**,** 402-5.

HAJRA, K. M. & FEARON, E. R. 2002. Cadherin and catenin alterations in human cancer. *Genes Chromosomes Cancer,* 34**,** 255-68.

HANAHAN, D. & WEINBERG, R. A. 2000. The hallmarks of cancer. *Cell,* 100**,** 57-70.

HARAGUCHI, M., OKUBO, T., MIYASHITA, Y., MIYAMOTO, Y., HAYASHI, M., CROTTI, T. N., MCHUGH, K. P. & OZAWA, M. 2008. Snail regulates cell-matrix adhesion by regulation of the expression of integrins and basement membrane proteins. *J Biol Chem,* 283**,** 23514-23.

HART, M., CONCORDET, J. P., LASSOT, I., ALBERT, I., DEL LOS SANTOS, R., DURAND, H., PERRET, C., RUBINFELD, B., MARGOTTIN, F., BENAROUS, R. & POLAKIS, P. 1999. The

F-box protein beta-TrCP associates with phosphorylated beta-catenin and regulates its activity in the cell. *Curr Biol,* 9**,** 2.10-07

HAY, E. D., TRELSTAD, R. L. & REVEL, J. D. 1967. Cell contact during early morphogenesis in the chick embryo. *Dev Biol,* 16**,** 78-106.

HINCK, L., NATHKE, I. S., PAPKOFF, J. & NELSON, W. J. 1994. Dynamics of cadherin/catenin complex formation: novel protein interactions and pathways of complex assembly. *J Cell Biol,* 125**,** 1327-40.

HIROHASHI, S. 1998. Inactivation of the E-cadherin-mediated cell adhesion system in human cancers. *Am J Pathol,* 153**,** 333-9.

HUBER, A. H. & WEIS, W. I. 2001. The structure of the beta-catenin/E-cadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by beta-catenin. *Cell,* 105**,** 391-402.

JECHLINGER, M., GRUNERT, S. & BEUG, H. 2002. Mechanisms in epithelial plasticity and metastasis: insights from 3D cultures and expression profiling. *J Mammary Gland Biol Neoplasia,* 7**,** 415-32.

JOSEPH, A. W. & D'SOUZA, G. 2012. Epidemiology of human papillomavirus-related head and neck cancer. *Otolaryngol Clin North Am,* 45**,** 739-64.

KALLAKURY, B. V., SHEEHAN, C. E., WINN-DEEN, E., OLIVER, J., FISHER, H. A., KAUFMAN, R. P., JR. & ROSS, J. S. 2001. Decreased expression of catenins (alpha and beta), p120 CTN, and E-cadherin cell adhesion proteins and E-cadherin gene promoter methylation in prostatic adenocarcinomas. *Cancer,* 92**,** 2786-95.

KALLURI, R. & NEILSON, E. G. 2003. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest,* 112**,** 1776-84.

KALLURI, R. & WEINBERG, R. A. 2009. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest,* 119**,** 1420-8.

KALLURI ,R. & ZEISBERG, M. 2006. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer,* 6**,** 392-401.

KANNAN, S., YOKOZAKI, H., JAYASREE, K., SEBASTIAN, P., MATHEWS, A., ABRAHAM, E. K., NAIR, M. K. & TAHARA, E. 2002. Infrequent loss of heterozygosity of the major tumour suppressor genes in Indian oral cancers. *Int J Oral Maxillofac Surg,* 31**,** 414-8.

KAWANISHI, J., KATO, J., SASAKI, K., FUJII, S., WATANABE, N. & NIITSU, Y. 1995. Loss of E-cadherin-dependent cell-cell adhesion due to mutation of the beta-catenin gene in a human cancer cell line, HSC-39. *Mol Cell Biol,* 15**,** 1175-81.

KEMLER, R. 1993. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion. *Trends Genet,* 9**,** 317-21.

KIEMER, A. K., TAKEUCHI, K. & QUINLAN, M. P. 2001. Identification of genes involved in epithelial-mesenchymal transition and tumor progression. *Oncogene,* 20**,** 6679-88.

KIM, K., LU, Z. & HAY, E. D. 2002. Direct evidence for a role of beta-catenin/LEF-1 signaling pathway in induction of EMT. *Cell Biol Int,* 26**,** 463-76.

KNUDSEN ,K. A. & WHEELOCK, M. J. 1992. Plakoglobin, or an 83-kD homologue distinct from beta-catenin, interacts with E-cadherin and N-cadherin. *J Cell Biol,* 118**,** 671-9.

KOVYLINA, M. V., PUSHKAR, D., ZAIRAT'IANTS, O. V. & RASNER, P. I. 2006. [Glandular squamous cell carcinoma of the urinary bladder]. *Arkh Patol,* 68**,** 35-7.

KUDO, Y., KITAJIMA, S., OGAWA, I., HIRAOKA, M., SARGOLZAEI, S., KEIKHAEE, M. R., SATO, S., MIYAUCHI, M. & TAKATA, T. 2004. Invasion and metastasis of oral cancer cells

require methylation of E-cadherin and/or degradation of membranous beta-catenin. *Clin Cancer Res,* 10**,** 5455-63.

KUMAR, V. & ROBBINS, S. L. 2013. Robbins basic pathology 9th. *Philadelphia, PA, Saunders/Elsevier***,** 161-214.

LAXMIDEVI, L. B., ANGADI, P. V., PILLAI, R. K. & CHANDRESHEKAR ,C. 2010. Aberrant beta-catenin expression in the histologic differentiation of oral squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma: an immunohistochemical study. *J Oral Sci,* 52**,** 633-40.

LEWIS, J. E., JENSEN, P. J., JOHNSON, K. R. & WHEELOCK, M. J. 1994 .E-cadherin mediates adherens junction organization through protein kinase C. *J Cell Sci,* 107 (Pt 12)**,** 3615-21.

LIU, L. K., JIANG, X. Y., ZHOU, X. X., WANG, D. M., SONG, X. L. & JIANG, H. B. 2010. Upregulation of vimentin and aberrant expression of E-cadherin/beta-catenin complex in oral squamous cell carcinomas: correlation with the clinicopathological features and patient outcome. *Mod Pathol,* 23**,** 213-24.

LOPES, F. F., DA COSTA MIGUEL, M. C., PEREIRA, A. L., DA CRUZ, M. C., DE ALMEIDA FREITAS, R., PINTO ,L. P. & DE SOUZA, L. B. 2009. Changes in immunoexpression of E-cadherin and beta-catenin in oral squamous cell carcinoma with and without nodal metastasis. *Ann Diagn Pathol,* 13**,** 22-9.

LU, Z., GHOSH, S., WANG, Z. & HUNTER, T. 2003. Downregulation of caveolin-1 function by EGF leads to the loss of E-cadherin, increased transcriptional activity of beta-catenin, and enhanced tumor cell invasion. *Cancer Cell,* 4**,** 499-515.

MACDONALD, B. T., TAMAI, K. & HE, X. 2009. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell,* 17**,** 9-26.

MARTIN, A. C., KASCHUBE, M. & WIESCHAUS, E. F. 2009. Pulsed contractions of an actin-myosin network drive apical constriction. *Nature,* 457**,** 495-9.

MCCREA, P. D., TURCK, C. W. & GUMBINER, B. 1991. A homolog of the armadillo protein in Drosophila (plakoglobin) associated with E-cadherin. *Science,* 254**,** 1359-61.

MORENO-BUENO, G., PORTILLO, F. & CANO, A. 2008. Transcriptional regulation of cell polarity in EMT and cancer. *Oncogene,* 27**,** 6958-69.

MUTA, H., NOGUCHI, M., KANAI, Y., OCHIAI, A., NAWATA, H. & HIROHASHI, S. 1996. E-cadherin gene mutations in signet ring cell carcinoma of the stomach. *Jpn J Cancer Res,* 87**,** 843-8.

NAWSHAD, A., LAGAMBA, D., POLAD, A. & HAY, E. D. 2005. Transforming growth factor-beta signaling during epithelial-mesenchymal transformation: implications for embryogenesis and tumor metastasis. *Cells Tissues Organs,* 179**,** 11-23.

NCI 2013. Dictionary of Cancer Terms http://www.cancer.gov/dictionary?CdrID=46445.

NEGANOVA, I. E., SEKIRINA, G. G. & EICHENLAUB-RITTER, U. 2000. Surface-expressed E-cadherin, and mitochondrial and microtubule distribution in rescue of mouse embryos from 2-cell block by aggregation. *Mol Hum Reprod,* 6**,** 454-64.

NEVILLE, B. W. 2009. *Oral and maxillofacial pathology,* St. Louis, Mo ,.Saunders Elsevier.

ODAR, K., KOCJAN, B. J., HOSNJAK, L., GALE, N., POLJAK, M. & ZIDAR, N. 2014. Verrucous carcinoma of the head and neck - not a human papillomavirus-related tumour? *J Cell Mol Med,* 18**,** 635-45.

OLMEDA, D., CASTEL, S., VILARO, S. & CANO, A .2003 .Beta-catenin regulation during the cell cycle: implications in G2/M and apoptosis. *Mol Biol Cell,* 14**,** 2844-60.

OYAMA, T., KANAI, Y., OCHIAI, A., AKIMOTO, S., ODA, T., YANAGIHARA, K., NAGAFUCHI, A., TSUKITA, S., SHIBAMOTO, S., ITO, F. & ET AL. 1994 .A truncated beta-catenin disrupts the interaction between E-cadherin and alpha-catenin: a cause of loss of intercellular adhesiveness in human cancer cell lines. *Cancer Res,* 54**,** 6282-7.

PALOMARES, O., RUCKERT, B., JARTTI, T., KUCUKSEZER, U. C., PUHAKKA ,T., GOMEZ, E., FAHRNER, H. B., SPEISER, A., JUNG, A., KWOK, W. W., KALOGJERA, L., AKDIS, M. & AKDIS, C. A. 2012. Induction and maintenance of allergen-specific FOXP3+ Treg cells in human tonsils as potential first-line organs of oral tolerance. *J Allergy Clin Immunol,* 129**,** 510-20, 520 e1-9.

PIEPENHAGEN, P. A. & NELSON, W. J. 1993. Defining E-cadherin-associated protein complexes in epithelial cells: plakoglobin, beta- and gamma-catenin are distinct components. *J Cell Sci,* 104 (Pt 3)**,** 751-62.

POLAKIS, P .2007 .The many ways of Wnt in cancer. *Curr Opin Genet Dev,* 17**,** 45-51.

POTTER, E., BERGWITZ, C. & BRABANT, G. 1999. The cadherin-catenin system: implications for growth and differentiation of endocrine tissues. *Endocr Rev,* 20**,** 207-39.

PUKKILA, M. J., VIRTANIEMI, J. A., KUMPULAINEN, E. J., PIRINEN, R. T., JOHANSSON, R. T., VALTONEN, H. J., JUHOLA, M. T. & KOSMA, V. M. 2001. Nuclear beta catenin expression is related to unfavourable outcome in oropharyngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol,* 54**,** 42-7.

QUEIMADO, L., OBESO, D., HATFIELD, M. D., YANG, Y., THOMPSON, D. M. & REIS, A. M. 2008. Dysregulation of Wnt pathway components in human salivary gland tumors. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg,* 134**,** 94-101.

RASBRIDGE, S. A., GILLETT, C .E., SAMPSON, S. A., WALSH, F. S. & MILLIS, R. R. 1993. Epithelial (E-) and placental (P-) cadherin cell adhesion molecule expression in breast carcinoma. *J Pathol,* 169**,** 245-50.

REGEZI, J. A., SCIUBBA, J. J. & JORDAN, R. C. K. 2008. *Oral pathology : clinical pathologic correlations,* St. Louis, Mo., Saunders Elsevier.

REGEZI, J. A., SCIUBBA, J. J. & JORDAN, R. C. K. 2012. Oral pathology : clinical pathologic correlations 6th. *St. Louis, Mo., Saunders/Elsevier***,** 71.

RISINGER, J. I., BERCHUCK, A., KOHLER, M. F & .BOYD, J. 1994. Mutations of the E-cadherin gene in human gynecologic cancers. *Nat Genet,* 7**,** 98-102.

RODRIGO, J. P., DOMINGUEZ, F., SUAREZ, V., CANEL, M., SECADES, P. & CHIARA, M. D. 2007. Focal adhesion kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg,* 133**,** 145-50.

ROSADO, P., LEQUERICA-FERNANDEZ, P., FERNANDEZ, S., ALLONCA, E., VILLALLAIN, L. & DE VICENTE, J. C. 2013. E-cadherin and beta-catenin expression in well-differentiated and moderately-differentiated oral squamous cell carcinoma: relations with clinical variables. *Br J Oral Maxillofac Surg,* 51**,** 149-56.

ROSTOGI V , PURI N , S, M. & S, A. 2013. An insight to oral epithelial dysplasia. *Int J Head Neck Surg* 4(2)**,** 74-82.

ROTHENBERG, S. M & .ELLISEN, L. W. 2012. The molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Invest,* 122**,** 1951-7.

SHAPIRO, L. 2001. beta-catenin and its multiple partners: promiscuity explained. *Nat Struct Biol,* 8**,** 484-7.

STOCKINGER, A., EGER, A., WOLF, J., BEUG, H. & FOISNER, R. 2001. E-cadherin regulates cell growth by modulating proliferation-dependent beta-catenin transcriptional activity. *J Cell Biol,* 154**,** 1185-96.

SUN, H., LIU, X. & LI, M. 2000. [E-cadherin expression and its clinical significance in cervical cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi,* 22**,** 496-8.

TAGHAVI, N. & YAZDI, I. 2007. Type of food and risk of oral cancer. *Arch Iran Med,* 10**,** 227-32.

TAKAYAMA, T., SHIOZAKI, H., SHIBAMOTO, S., OKA, H., KIMURA, Y., TAMURA, S., INOUE, M., MONDEN, T ,.ITO, F. & MONDEN, M. 1996. Beta-catenin expression in human cancers. *Am J Pathol,* 148**,** 39-46.

TAKEICHI, M. 1993. Cadherins in cancer: implications for invasion and metastasis. *Curr Opin Cell Biol,* 5**,** 806-11.

THIERY, J. P. 2002. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer,* 2**,** 442-54.

THIERY, J. P., ACLOQUE, H., HUANG, R. Y. & NIETO, M. A. 2009. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell,* 139**,** 871-90.

THIERY, J. P. & SLEEMAN, J. P. 2006. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol,* 7**,** 131-42.

THOMPSON, L. D. R. 2006. *Head and neck pathology,* Edinburgh, Elsevier/ Churchill Livingstone.

UEDA, G., SUNAKAWA, H., NAKAMORI, K., SHINYA, T., TSUHAKO, W., TAMURA, Y., KOSUGI, T., SATO, N., OGI, K. & HIRATSUKA, H. 2006. Aberrant expression of beta- and gamma-catenin is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg,* 35**,** 356-61.

UNDERWOOD, J. C. E. 2004. Carcinogenesis And Neoplasia : General And Systematic Pathology : 4Th ed. *USA : Churchill Livingstone***,** 224.

VAN AKEN, J., CUVELIER, C. A., DE WEVER, N., ROELS, J., GAO, Y. & MAREEL, M. M. 1993. Immunohistochemical analysis of E-cadherin expression in human colorectal tumours .*Pathol Res Pract,* 189**,** 975-8.

WEINBERG, R. A. 2008. Twisted epithelial-mesenchymal transition blocks senescence. *Nat Cell Biol,* 10**,** 1021-3.

WIJNHOVEN, B. P., DINJENS, W. N. & PIGNATELLI, M. 2000. E-cadherin-catenin cell-cell adhesion complex and human cancer. *Br J Surg,* 87**,** 992-1005.

WILLIAMS, H. K., SANDERS, D. S., JANKOWSKI, J. A., LANDINI, G. & BROWN, A. M. 1998. Expression of cadherins and catenins in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med,* 27**,** 308-17.

WONG, N. A. & PIGNATELLI, M. 2002. Beta-catenin--a linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol,* 160**,** 389-401.

XING, Y., TAKEMARU, K., LIU, J., BERNDT, J. D., ZHENG, J. J., MOON, R. T. & XU, W. 2008. Crystal structure of a full-length beta-catenin. *Structure,* 16.87-478 ,

XUE, C., PLIETH, D., VENKOV, C., XU, C. & NEILSON, E. G. 2003. The gatekeeper effect of epithelial-mesenchymal transition regulates the frequency of breast cancer metastasis. *Cancer Res,* 63**,** 3386-94.

YANG, J. & WEINBERG, R. A. 2008. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell,* 14**,** 818-29.

YOUNG, C. S., KITAMURA, M., HARDY, S. & KITAJEWSKI, J. 1998. Wnt-1 induces growth, cytosolic beta-catenin, and Tcf/Lef transcriptional activation in Rat-1 fibroblasts. *Mol Cell Biol,* 18**,** 2474-85.

ZEISBERG, E. M., POTENTA, S. E., SUGIMOTO, H., ZEISBERG, M. & KALLURI, R. 2008. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. *J Am Soc Nephrol,* 19**,** 2282-7.

ZEISBERG, M. & NEILSON, E .G. 2009. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest,* 119**,** 1429-37.

ZEISBERG, M., SHAH, A. A. & KALLURI, R. 2005. Bone morphogenic protein-7 induces mesenchymal to epithelial transition in adult renal fibroblasts and facilitates regeneration of injured kidney. *J Biol Chem,* 280**,** 8094-100.

ZHAI, J. W., YANG, X. G., YANG, F. S., HU, J. G. & HUA, W. X. 2010. Expression and clinical significance of Ezrin and E-cadherin in esophageal squamous cell carcinoma. *Chin J Cancer,* 29**,** 317-20.

ZHURINSKY, J., SHTUTMAN, M. & BEN-ZE'EV, A. 2000. Plakoglobin and beta-catenin: protein interactions, regulation and biological roles. *J Cell Sci,* 113 (Pt 18)**,** 3127-39.

المُلخَّص

مقدّمة :

يشكّل السَرَطان شائِك الخلايا أكثر من 90% من الخباثات التي تصيب الرأس والعنق ويقسم إلى ثلاث درجات نسيجيّة . يقدّم التحوّل الظهاري الميزانشيمي آليّة تقوم من خلالها الخلايا الظهاريّة بالغزو و الاستعمار ، ويُعتقد أنّ لواسماته ارتباطاً مع الدرجة النسيجيّة للورم .

الهدف من البحث :

تحرّي تعبيريّة واسمي التحوّل الظهاري الميزانشيمي β–catenin و E–cadherin وعلاقتها مع الدرجات النسيجيّة المختلفة للسرطان شائِك الخلايا في الرأس و العنق وعلاقة كلا الواسمين مع بعضهما .

المواد و الطرائق :

في هذه الدراسة الاستعاديّة تمّت مقارنة تعبيريّة بروتيني β–catenin و E–cadherin في 33 حالة سرطان شائِك خلايا في منطقة الرأس و العنق (25 ذكور + 8اناث) تراوحت أعمارهم بين (18–90) سنة، ، تمّ فرزهم إلى 3 مجموعات حسب الدرجة النسيجيّة للورم ، وتمّ التلوين بطريقة كيميامناعية نسيجيّة .

النتائج :

لوحظ وجود ارتباط واضح لتعبيريّة بروتيني β–catenin و E–cadherin مع الدرجة النسيجيّة للورم، حيث انخفضت شدّة التلوّن مع انخفاض تمَايُز الورم. ظهرت تعبيريّة β–catenin في 87% من الخلايا في الحالات جَيِّدة التمَايُز مقابل 68% في متوسّطة التمَايُز و 43% في ضعيفة التمَايُز. كذلك بالنسبة إلى E–cadherin حيث ظهرت في 82% و 61% و 39% على التوالي . كما وجدنا ارتباطا واضحا بين تعبيريّة كل من الملوّنين .

الاستنتاجات :

ضمن حدود هذه الدراسة تبين أن تعبيريّة بروتيني β –catenin و E–cadherin يمكن أن تمثّل واسِماً انذاريّاً للسرطان شائِك الخلايا في الراس و العنق.

الكلمات المفتاحيّة :

السَرَطان شائِك الخلايا في الرأس والعنق ، التحوّل الظهاري الميزانشيمي ، بروتين β–catenin ، بروتين E–cadherin ، الدرجة النسيجيّة.

Abstract

Introduction: Squamous cell carcinoma accounting for more than 90% of Head and Neck malignancies. It is divided into three histopathological grades. Epithelial to mesenchymal transition provides a method by which epithelial cells can invade and metastasize ، it's supposed that it's biomarkers are related to the histopathological grade.

Aim of study

To investigate the expression of β-catenin and E-cadherin as an EMT biomarkers and its relation to the histopathological grade of the Head and Neck SCC، and the relation between both.

Material and Methods:

the study compared the expression of β-catenin and E-cadherin in 33 cases HNSCC (25males+8females) aged between (18-90) years ، divided into three groups according to the histopathological grade of the tumor. The sample was stained immunohistochemicaly.

Results:

A close correlation was observed between the expression of β-catenin and E-cadherin with the histopathological grade of the tumor. The expression decreased in association with the decreased differentiation.

β -catenin expression was seen in 87% of cells in well differentiated samples ، 68% of moderately differentiated and 43% of poorly differentiated. E-cadherin expression appeared in 82%، 61% and 39% in order. A close correlation was observed between the expressions of both markers.

Conclusions:

According to this study، the expression of β-catenin and E-cadherin can be used as prognostic biomarkers of the HNSCC.

Key words

Head and Neck squamous cell carcinoma، Epithelial to mesenchymal transition، β-catenin، E-cadherin، Histopathological grade.