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

دراسة كيميا نسيجية مناعية لدور مستقبل عامل النمو البشروي EGFr في تحديد درجة خبث الإصابة بالسرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفموية .

Immunohistochemical Study of the role of the Epidermal growth factor receptor in detecting the degree of Oral squamous cell Carcinoma

بحث علمي أعد لنيل درجة الماجستير في علوم طب الأسنان قسم النسج والتشريح المرضي الفموي في جامعة دمشق

إعداد الباحثة

الدكتورة رولا عز الدين

إشراف الأستاذ المساعد الدكتور

شريف بركات

أستاذ في قسم النسج والتشريح المرضي

كلية طب الأسنان / جامعة دمشق

2013 م – 1434هـ

تصريح

الاسم : رولا صالح عزالدين

مكان وتاريخ الولادة : دمشق 1973/9/8

عنوان البحث باللغة العربية : دراسة كيميا نسيجية مناعية لدور مستقبل عامل النمو البشروي EGFr في تحديد درجة خبث الإصابة بالسرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفموية

لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم أخذه بالكامل من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أي جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي

الإهداء

إلى نبع الحب و الحنان ، إلى من ربياني على حب العلم ....
إلى أبي وأمي
إلى من قاسمني حلاوة الأيام ومرارتها ، إلى توأم روحي ....
إلى زوجي
إلى زينة الحياة الدنيا ، ومن استنشقت حبهم ....
إلى أبنائي
إلى من يشتد بهم أزري و تقوى بهم عزيمتي ....
إلى إخوتي
إلى إخوة لي من غير أمي ....
إلى أصدقائي

إلى كل هؤلاء أهدي جهدي المتواضع

كلمة شكر

أتقدم بتحية شكر و وفاء لعمادة كلية طب الأسنان و رئاسة قسم النسج و التشريح المرضي التي احتضنت هذا البحث ، و ساهمت بإنجاز العمل المطلوب فيه .

وأتوجه بجزيل الشكر إلى أساتذتي الكرام في قسم النسج والتشريح المرضي وأخص بالشكر أستاذي الدكتور شريف بركات الذي تفضل بقبول هذا البحث بداية وأضاف الكثير في سبيل إنجاح هذا العمل . كما أتقدم بكل الامتنان إلى استاذي الدكتور أحمد المنديلي نقيب المعلمين فرع جامعة دمشق و الدكتور علي أبو سليمان المدرس في قسم اللثة بكلية طب الأسنان في جامعة دمشق لتفضلهم مشكورين بتحكيم هذا البحث .

والشكر كل الشكر إلى كل من ساعدني في إنجاز هذا البحث وأخص بالذكر السيد ناصر كتابي و زملائي في قسم التشريح المرضي .

قائمة المحتويات

	رقم الصفحة
الهدف من البحث	14
الباب الأول : المراجعة النظرية	**15**
1- تعاريف و إحصائيات	15
2- آلية تطور السرطان	17
2-1 الطفرة الابتدائية	
2-2 الترقي	
2-3 الورم الغازي الموضع	
2-4 الخباثة	
3- انتشار السرطان الفموي	17
4 - الوصف النسيجي المرضي للسرطان البشري شائك الخلايا	18
5- درجة السرطان البشروي الفموي شائك الخلايا	19
6- تشخيص السرطان الفموي	21
6-1 الفحوص السريرية	
6-2 الفحوص المخبرية	
7- الوقاية من السرطان البشري شائك الخلايا	21
7-1 دور طبيب الأسنان	
7-2 الفحص السريري للفم	
7-3 الابتعاد عن الأسباب المتهمة بإحداث السرطان	
7-4 دور فيتامين A و C	
7-5 دور الرتينوئيد	
7-6 دور فيتامين E	
8- الإنذار و النكس ونسبة البقيا على قيد الحياة في السرطان الفموي	22
9- العوامل المسببة للسرطان السرطان البشروي شائك الخلايا	23
9-1 استعمال التبغ بكل أنواعه	23

رقم الصفحة

2-9 الكحول 24
3-9 دور الغذاء 25
4-9 اختلاف العرق 25
5-9 الأشعة فوق البنفسجية 25
6-9 التخريش المزمن 26
7-9 انتانات الفم والانتان ببعض الحمات الراشحة 26
8-9 الافرنجي 27
9- 9 داء المبيضات البيض المزمن 27
10-9 العوامل الوراثية 27
11-9 دور بعض البروتينات والانزيمات في حدوث وترقي السرطان 28
12-9 الوراثة و اختلال الصيغة الصبغية لسلاسل DNA 29
1-12-9 المورثات عند الإنسان و المجين البشري 29
2-12-9 أنواع المورثات عند الإنسان 30
3-12-9 اختلال الصيغة الصبغية لسلاسل DNA 31
10- المورثات المتورطة في إحداث سرطانات الرأس و العنق 33
1-10 المورثات الكابتة للورم 33
1-1-10 المورثة TP53 33
2-1-10 مورثة الورم الأرومي الشبكي Rb 34
3-1-10 مورثة p16 – p21 -p57- p27 34
2-10 المورثات التي تنظم الموت الخلوي المبرمج 34
3-10 المورثات الورمية لسرطانات الرأس و العنق 34
1-3-10 السيكلينات 34
2-3-10 المورثة (STAT3) 35
3-3-10 عامل النمو البشروي 36
1-3-3-10 دورة الانقسام الخلوي و أطوارها 36
2-3-3-10 نقاط التحقق 38
3-3-3-10 دور عامل النمو البشرويEGF في حدوث Oscc 39
4-3-3-10 EGFRs وعلاج OSCC 43

رقم الصفحة

الباب الثاني : المواد والطرائق 46
1- العينات المستخدمة في البحث 47
2- شروط أخذ الخزعة 47
3- المعالجة الاحصائية 47
4- المواد و الأجهزة المستخدمة في البحث 48
4-1 المواد 48
4-2 الأجهزة 49
5- طرق الداراسة 49
5-1 طريقة الدراسة النسيجية العادية 49
5-2 طريقة التلوين بالملون الكيميائي النسيجي المناعي 50
6- لمحة عن الملون المناعي (ضد المورثة EGFR) 51
7- استمارة الفحص السريري و النسيجي 52
الباب الثالث : النتائج والدراسة الإحصائية 56
1- خصائص عينة الدراسة 57
2- دراسة العلاقات والارتباط بين متغيرات الدراسة 58
2-1 دراسة العلاقة بين درجة التعبيرعن عامل النمو البشرويEGF وعلائم الخبث الخلوي 58
2-2 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF مع وجود كرات التقرن 60
2-3 دراسة العلاقة بين درجة التعبيرعن EGF مع عدد الخلايا المشمولة بالخبث 62
2-4 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF مع درجة الخبث النسيجية 64
2-5 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF مع مكان التلون 66
2-6 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF مع الالتهاب 69
2-7 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF والفئة العمرية للمريض 71
2-8 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF و مكان الاصابة OSCC 73
الباب الرابع : المناقشة 87
الباب الخامس : الاستنتاجات 97
الباب السادس : المقترحات والتوصيات 98
الباب السابع : المراجع 99
ملخص باللغة العربية و الانكليزية 113 - 115

قائمة جداول الدراسة

الجدول	اسم الجدول	رقم الصفحة
1	الجدول (1) يبين الترميز الخاص بسرطان الرأس والعنق لدى Booth	20
2	الجدول (2) يبين الترميز الخاص بسرطان الرأس والعنق لدى Booth لتصنيف أكثر دقة	21
3	الجدول (3) يبين وجود السيكلينات مع الكينازات المرتبطة السيكلين في كل أطوار الدورة الخلوية	36
4	الجدول (4) يبين توزع عينة الدراسة حسب الجنس	58
5	الجدول (5) يبين توزع عينة الدراسة حسب الفئة العمرية	58
6	الجدول (6) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي وعلائم الخبث الخلوي	60
7	الجدول (7) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي وعلائم الخبث الخلوي	61
8	الجدول (8) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي و وجود أو عدم وجود كرات التقرن المعكوس	62
9	الجدول (9) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي و وجود أو عدم وجود كرات التقرن المعكوس	63
10	الجدول (10) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي و عدد الخلايا المشمولة بالخبث	64
11	الجدول (11) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي وعدد الخلايا المشمولة بالخبث	65
12	الجدول (12) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي	66
13	الجدول (13) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي و درجة الورم النسيجية	67
14	الجدول (14) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي ومكان التلون	**68**

15	الجدول (15) يبين اختبار كاي التربيعي لدرجة التعبير عن عامل النمو البشروي ومكان التلون	69
16	الجدول (16) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي ومكان التلون	69
17	الجدول (17) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي و الالتهاب	70
18	الجدول (18) يبين اختبار كاي التربيعي لدرجة التعبير عن عامل النمو البشروي والالتهاب	71
19	الجدول (19) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي والالتهاب	71
20	الجدول (20) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي والفئة العمرية	72
21	الجدول (21) يبين اختبار كاي التربيعي لدرجة التعبير عن عامل النمو البشروي و والفئة العمرية	73
22	الجدول (22) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي ومكان الاصابة	74
23	الجدول (23) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين درجة التعبير عن عامل النموالبشروي ومكان الاصابة	75

قائمة أشكال الدراسة و الصور المجهرية

الشكل	اسم الشكل	رقم الصفحة
1	الشكل رقم (1) رسم توضيحي(مفصل) لكل طور من أطوارالدورة الخلوية	38
2	الشكل رقم (2) شكل مبسط لنقاط تحقق الدورة الخلوية	40
3	الشكل رقم (3) إشارات EGF	41
4	الشكل رقم(4) كيت التلوين المناعي المفرد من شركة Dako – الدانمارك	54
5	الشكل رقم (5) محلول استرجاع المستضد	54
6	الشكل رقم (6) المبشرة النسيجية	55
7	الشكل رقم (7) محم مائي لفرش المقاطع النسيجية	55
8	الشكل رقم (8) فرن التجفيف	55
9	الشكل رقم (9) المجهر الضوئي	56
10	الشكل رقم (10) قلم التحديد من شركة (Dako)	56
11	الشكل رقم (11) الممص	56
12	الشكل (12) يبين توزع بيانات العينة حسب الجنس	58
13	الشكل (13) يبين توزع بيانات العينة حسب الفئة العمرية	59
14	الشكل (14) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي وعلائم الخبث الخلوي	61
15	الشكل (15) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي ووجود أو عدم وجود كرات التقرن المعكوس	63
16	الشكل (16) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي وعدد الخلايا ا لمشمولة بالخبث	65
17	الشكل (17) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي ودرجة الخبث النسيجي	67
18	الشكل (18) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي و مكان التلون	70
19	الشكل (19) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي والالتهاب	72

الشكل	اسم الشكل	رقم الصفحة
20	الشكل (20) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي وعمر المريض	73
21	الشكل (21) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي ومكان الاصابة	75
22	الشكل (22) + EGF في محيط الجزر الورمية مع وجود انقسامات شاذة	76
23	الشكل (23) ++ EGF مع وجود التهاب مجاور للجزر الورمية	76
24	الشكل (24) +++ EGF في محيط الجزر الورمية grade I OSCC	77
25	الشكل (25) +++ EGF في محيط الجزر الورمية OSCC درجة أولى grade I	77
26	الشكل (26) ++ EGF في محيط الجزر الورمية + في المركز . مع وجود التهاب grade II OSCC .	78
27	الشكل (27) ++ EGF في محيط الجزر الورمية + في المركز . مع فرط اصطباغ grade II OSCC .	78
28	الشكل (28) إيجابية منخفضة + EGF . خلايا التهابية كثيفة و منتشرة OSCC grade II	79
29	الشكل (29) إيجابية منخفضة +EGF وفي المحيط أكثر من المركز OSCC grade I	79
30	الشكل (30) إيجابية مرتفعة ++ + EGF . لا يوجد خلايا التهابية OSCC grade III	80
31	الشكل (31) EGF سلبي . سرطان عالي التمايز OSCC gradeI	80
32	الشكل (32) EGF في المحيط ++ وبالمركز + OSCC grade I	81
33	الشكل (33) EGF في المحيط +++ وبالمركز سلبي OSCC grade I	81
34	الشكل (34) إيجابية ++ EGF في محيط الجزيرة الورمية . خلايا التهابية كثيفة و منتشرة OSCC grade II	82
35	الشكل (35) إيجابية مرتفعة +++EGF وفي المحيط أكثر من المركز . OSCC grade I	82
36	الشكل (36) إيجابية مرتفعة ++ EGF . مع وجود خلايا التهابية OSCC grade II	83
37	الشكل (37) EGF +++ مع وجود خلايا التهابية OSCC gradeII	83

الشكل	اسم الشكل	رقم الصفحة
38	الشكل (38) EGF +++. وضوح النويات OSCC grade I	84
39	الشكل (39) EGF _ سلبي OSCC gradeIII	84
40	الشكل (40) H&E OSCC grade II وجود انقسامات شاذة	85
41	الشكل (41) H&E OSCC grade III تعدد أشكال الخلايا	85
42	الشكل (42) H&E OSCC grade I لا يوجد خلايا التهابية	86
43	الشكل (43) H&E OSCC grade III تعدد أشكال الخلايا ، ورشاحة التهالبية خفيفة	86

جدول الاختصارات

الاختصار	الاسم الكامل باللغة الانكليزية	معنى الاسم باللغة العربية
OSCC	Oral squamous cell carcinoma	السرطان البشروي شائك الخلايا الفموي
Rat	Rat sarcoma	ساركوما الجرذ
PCNA	proliferation cellular nuclear antigen	المستضد النووي لتكاثر الخلايا
VEGF	vascular endothelial growth factor	عامل النمو البطاني
2(MDM2)	murine double minute	البروتين الورمي
HIV	human immunodeficiency virus	حمة نقص المناعة البشري المكتسب
HPV	human papilloma virus	الحمة الراشحة البشرية الحليمية
EBV	Epstein-Barr Virus	الحمة الراشحة إبشتاين بار
CDK	cyclin Depended Kinase	السايكلينات المعتمدة على الكيناز
CDK inhabitors	cyclin Depended Kinase inhabitors	مثبطات السايكلين المعتمدة على الكيناز
GSTM1	Glutahion S Transferase microfilter 1	أنزيم الغلوتين s الناقل
Rb	Rb Protein	البروتين Rb
HSP 27	protein27 Heat shock	بروتين الصدمة الحراريّ 27
CD4	Helper T lymphocyte	الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة
SAC	s- allyl cysteine	محلول الثوم في الماء
MPF	Mitosis promoting factor	عامل التحفيز النضجي
EGF	epithelial growth factor	عامل النمو البشروي
EGFR	epithelial growth factor	مستقبل عامل النمو البشروي
PKB	protein kinase B	بروتين الكيناز ب

الهدف من البحث

دراسة أهمية مورثة عامل النمو البشروي في التعرف على التغيرات النسيجية للسرطان الفموي البشروي شائك الخلايا ، للوصول إلى التشخيص التفريقي الصحيح ، و تحديد درجة الخبث بشكل دقيق .

الباب الأول : المراجعة النظرية
Literature Review

1- تعاريف و إحصائيات

السرطان هو كتلة خلوية تحررت من الآليات الطبيعية المنظمة والمحددة لنمو الخلايا في العضويات الحية ، إذ يطرأ على الخلايا شذوذ تطوري ، يحولها إلى خلايا طافرة ، وتتراكم التغيرات المورثية في المورثات المسؤولة عن الوظائف الخلوية الأساسية [1]. الأمر الذي يؤدي إلى حدوث تغيرات في النمط الظاهري[2]

ينشأ السرطان في أغلب الأحيان من طفرة تصيب خلية واحدة ، لذا توصف خلاياه بأنها وحيدة النسيلة (أحادية السلالة) mono clonal و تمتلك جميعها الملامح الوراثية و البيولوجية التي تتسم بها خلايا المنشأ [3].

تسمى هذه الكتلة الخلوية بالسرطان لأنها تمتلك امتدادات ورمية تشبه أذرع حيوان السرطان ، أو لأن الأوعية الدموي حول الورم تشبه أطراف سرطان البحر.

عرفته مصادر أخرى على أنه مجموعة آفات تتصف جميعها بتكاثر و نمو خلايا غير طبيعية و بشكل غير مسيطر عليه من قبل العضوية ، تنتشر هذه الخلايا في الأنسجة المجاورة ، و يكون حدوث التكاثر و الانقسام الخلوي سريع اً و بشكل متكرر ولانهائي ، لذلك من الممكن تسمية السرطان بأنه مرض الدورة الخلوية [1].

صرحت جمعية السرطان الأمريكية ، أن نسبة البقيا على قيد الحياة مدة أكثر من خمس سنوات لا تتجاوز 50% ،أما عند الأطفال فيعتبر السرطان المسبب الأول للموت عند الأطفال ما بين العام الأول و الرابع عشر من حياتهم [2].

يعتبر السرطان الفموي من السرطانات الشائعة و الأكثر انتشاراً في العالم ، حيث 'تصرح منظمة الصحة العالمية WHO أنه يحتل المرتبة الثامنة في العالم من بين جميع الأورام الخبيثة ، يشكل السرطان البشروي شائك الخلايا أكثر من 90% من الخباثات التي تصيب الحفرة الفموية[4]

2- يكتشف في العالم سنوياً ثلاثة ملايين إصابة جديدة لسرطانات الفم ، تشكل هذه السرطانات 3 % من كامل الخباثات الموجودة في الجسم [5]

تحتل سرطانات الفم المرتبة العاشرة بين الآفات الخبثية casiglia [6] والمرتبة الخامسة عند الرجال والمرتبة السابعة عند الإناث Parkin [7].

ينشأ السرطان البشروي الفموي شائك الخلايا على حساب البشرة المخاطية الفموية أما ما تبقى من خباثات الحفرة الفموية فأغلبها سرطانات بشروية غدية ، تنشأ على حساب الغدد اللعابية الصغيرة وما تبقى عبارة عن أورام غير متمايزة أو نقائل استعمارية [8]. حيث تحدث نقائل استعمارية بعيدة في 43 % من الحالات ، وهذا يعني هذا أنها ذات إنذار سيء ونسبة بقيا أقل [10،9]

يعتبر السرطان المسبب الثاني للموت بعد أمراض القلب والأوعية الدموية ، ومن المتوقع أن يصبح المسبب الأول مع الوقت [2]

وتتنبأ منظمة الصحة العالمية بزيادة هذه النسبة في الأعوام القادمة [11] ، ذكر Regizi أنه قد سجل أكثر من 30000 حالة جديدة من السرطانات الفموية و البلعومية الفموية عند الجنسين في أمريكا ، ويتوقع وفاة ما لا يقل عن 9500 مريض سنوياً نتيجة الإصابة بالسرطان الفموي، لأنه يتم تشخيص حالة سرطانية جديدة كل 30 ثانية[12].

يحتل السرطان شائك الخلايا الفموي oscc المرتبة الأولى بين السرطانات في الهند وسيرلانكا ، و تزيد نسبة الإصابة به فوق 40% عن باقي سرطانات الجسم [13] ، كما يصل لنسبة عالية في البرازيل فهو يصيب الرجال بنسبة 15.7 % [14]. ومما يجدر ذكره أن نسبة الإصابة بـ oscc في المملكة العربية السعودية وبعض دول الخليج في ازدياد مستمر [16،15] حيث تحتل المرتبة الثالثة من باقي خباثات الجسم [17] وبذلك نجد اختلاف نسبة الإصابات بالسرطان الفموي من منطقة إلى أخرى [18].

و يوجد اختلاف أيضاً في نسبة الإصابة بـ oscc بين الذكور والإناث ، فحسب Regizi [12] تكون نسبة الإصابة 1:2 (الذكور، الإناث) أما Neville [19] فوجد أنّ نسبة الإصابة 1:3 ، بينما يذكر Boring[4] أنّ السرطان البشروي شائك الخلايا الفموي يشكل 4% من مجموع الخباثات عند الرجال و 2 % عند الإناث.

تذكر بعض الدراسات أن السرطان الفموي يحدث عند الرجال بعمر أبكر(2-4 سنوات)مقارنة بحدوثه عند النساء[20]، لكن تزايد إقبال النساء على عادات التدخين والنرجيله يجعل نسبة إصابة النساء في تزايد واضح [12]. ويتراوح العمر المتوسط للإصابة بحدود (60 سنة) [20] . وتذكر دراسات أخرى أن 98% من المرضى المصابين بالسرطان الفموي أعمارهم فوق (40 سنة) [22،21،19،12] .

يؤكدNeville على الخطورة الكبيرة المترافقة مع الأشخاص ذوي البشرة البيضاء فوق عمر (65 سنة)، ويقول أن احتمال إصابتهم بالسرطان الفموي كبيرة مقارنة مع أي مجموعة أخرى [23]

يعتبر وضع التشخيص المبكر للآفات قبيل السرطانية و حتى السرطانات الفموية ، ومن ثمّ تلقي المريض للمعالجة المناسبة في المراحل المبكرة اللاعرضية من أهم العوامل التي تزيد نسبة البقاء على قيد الحياة ، وتخفف من معاناة المريض اللاحقة بعد المعالجة [24-25].

من هنا تأتي أهمية دور طبيب الأسنان في ضرورة إجراء فحص سريري شامل للفم لدراسة أي تغير أو شذوذ أو آفة تطرأ على الحفرة الفموية [6-26] ولا ننس أهمية الخزعة في تأكيد التشخيص [5] . فإذا أثبت الفحص الفموي السريري وجود قرحة فموية وحيدة في الفم يجب على طبيب الأسنان الاهتمام بها و فحصها بشكل جدي ، لأنه من الممكن أن تكون قرحة سرطانية خاصةً اذا كانت قرحة قاسية أونازفة وغير مؤلمه . أما عندما تكون التقرحات متعددة أو مؤلمه في الفم فمن النادر أن تكون قرحات سرطانية ،لأن السرطان الفموي غالبا ما يكون وحيد البؤرة وغير مؤلم[27] .

2-آلية تطور السرطان carcinogenesis

يمر السرطان خلال تطوره ونموه بأربعة مراحل رئيسية هي:

2-1 الطفرة الابتدائية Initial mutation

يحدث فيها تغير بسيط على مستوى الخلية إما في آلية عملها أو في طريقة التحكم بنشاطاتها ، يحدث هذا بسبب عوامل و مواد مسرطنة تؤدي الى تشكل خلية طافرة [3] لا يمكن رؤية هذه التغيرات مجهرياً[28].

2-2 الترقي Progression

تبدأ هذه الخلية الطافرة بالتكاثر غير المضبوط مع انقسام و نمو سريع على حساب الخلايا الأخرى ، يمكن ملاحظة التغيير الشكلي الحاصل في هذه الخلايا مجهرياً ، [28]

2-3 الورم الغازي الموضع Invasive in situe

يصبح حجم الكتلة السرطانية واضحاً سريرياً وإذا لم تتخذ الإجراءات العلاجية المناسبة يمكن أن تجتاح وتدمر الأنسجة المجاورة ، ثمّ ينتشر الورم إلى الأعضاء البعيدة ليعطي نقائلاً استعمارية[28].

2-4 الخباثة Malignancy

تنتشر الخلايا السرطانية الخبيثة إما بغزو الجوار أو بواسطة النقائل الاستعمارية البعيدة بالطريق اللمفاوي و الدموي[3-28] .

3- انتشار السرطان الفموي

يتميز السرطان على العموم بظاهرتين هما ظاهرة غزو الجوار بواسطة الامتدادات البشرية الاصبعية للنسج المجاورة Invasion سواء كانت نسجاً ضامة أو عضلية أو غدية ، أما

العظمية فتعتبر نسجاً صعبة الاختراق إلى حد ما ولفترة معينه حتى يحدث ائتكال في القشرة العظمية ليصبح بعدها انتقال السرطان أكثر سرعة ليصل إلى المسافات النقيوية [19] . أما الظاهرة الثانية لانتشار السرطان فهي الاستعمار Metastasis ، تحدث النقائل الاستعمارية من خلال الأوعية اللمفية ومن ثمّ إلى العقد اللمفية الناحية (العقد اللمفية تحت الذقنية وتحت الفكية فالعنقية فالوداجية فالكتفية اللامية) ، ومع مراعاة سير النزح اللمفي لمكان الإصابة [30،29] يكون الانتقال عبر الطريق الدموي أو عبر أغمدة الأوعية الدموية والأعصاب بنسبة أقل وذلك يكون في المراحل المتأخرة من الورم [31]

4- الوصف النسيجي المرضي للسرطان البشري شائك الخلايا Histopothologic features

أهم العلامات النسيجية للسرطان هو غزو الخلايا البشروية الخبيثة الأنسجة المجاورة ، لتتكاثر مشكلةً جزراً أو حبالاً بشروية غير منتظمة [32] ، تختلف عن خلايا البشرة الطبيعية من حيث الشكل والوظيفة ، لتجتاح عمق النسج المجاورة وبين العضلات و الأعصاب والأنسجة الغدية ، حتى قد تغزو النسيج العظمي الذي يعتبرنسيجاً صعب الاختراق [33]

صنفت السرطانات البشرية شائكة الخلايا في ثلاث درجات I To III أو أربع درجات I To IV ، تكون الأورام الأقل تميزاً هي الأكثر درجة (III أو IV) والأكثر خبثاً ، والأورام الأكثر تمييزاً هي الأقل درجة I أو II والأقل خبثاً والأكثر شبهاً بخلايا البشرة الطبيعية [19] ، تعتبر أغلب السرطانات الفموية سرطانات جيدة التمايز [34،33]، إذ تعتبر درجة قرب الخلايا من حيث الشكل من الخلايا الطبيعية و وجود المنتج الطبيعي لهذه الخلايا وهو القرنين عاملاً مهماً يجب أخذه بعين الاعتبار عند وضع التشخيص النسيجي [12،19] ، يسمى الورم الذي تشبه خلاياه النسيج الطبيعي ورماً عالي التمايز Well differentiated syuamous cell carcinoma . وبالعكس فإن الورم قليل التمايز تكون خلاياه بعيدة تماماً عن شكل الخلايا البشروية الطبيعية ، مع فشل في قدرة هذه الخلايا على تشكيل القرنين ، وصعوبة تحديد المنشأ النسيجي للخلايا وذلك بسبب بعد شكل ووظيفة الخلايا عن شكل ووظيفة خلايا النسيج الطبيعي ، يسمى هذا الورم ورماً قليل التمايز Poorly differentiated syuamous cell carcinoma ويتميز بسرعة الانتشار والاستعمار [19]

تضم علائم الخبث النسيجية التي يمكن مشاهدتها في OSCC بمختلف درجاتها على العموم علائم اللا نموذجية الخلوية cellular atipia ، تشتمل هذه العلائم :

1- تعدد أشكال الخلايا والنوى.

2- فرط اصطباغ النوى ووضوح النويات.

3- اختلاف النسبة النووية الهيولية ratio.

4- الانقسامات الشاذة (انقسام النواة دون انقسام الهيولي)

5- سوء التصنع(الثدن)

6- حدوث تقرن غير ناضج على شكل تقرن فردي لبعض الخلايا ضمن البشرة قبل وصولها إلى السطح (لألئ القرنين)

7- تشكل كرات التقرن المعكوس حيث يصبح القرنين في المركز و يحاط بالخلايا البشرية السرطانية عكس ما هو طبيعي بالبشرة السليمة حيث يكون القرنين على السطح والخلايا البشرية من الداخل [19]

يمكن مشاهدة التقرن الفردي (لآلئ القرنين) في السرطان البشري شائك الخلايا عالي التمايز، أما الأورام قليلة التمايز فلا نشاهد فيها أية دلائل على التقرن بسبب وجود درجة عالية من اللانموذجية الخلوية ، تكون الخلايا هنا بعيدة الشبه عن الخلايا الأصل (السليمة) من حيث الشكل والوظيفة، لا بد في هذه الحالة من استخدام الملونات الك يميائية النسيجية المناعية التي تستخدم الأضداد وحيدة النسلية للقرنين الخلوي لتمييز مستضدات القرنين عن الساركومات والسرطانات الأخرى [19،33] .

يحدث في oscc انقطاع استمرار الغشاء القاعدي أو زواله نهائياً . إن لكل ورم لحمة ضامة stroma خاصة به ، تحتوي على أوعية دموية مستحدثة وربما خلايا لمفاوية ومصورية [19] ، يحدث في المراحل المتقدمة من OSCC خللاً في وظيفة الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة CD4[35] ، أحياناً أخرى يكون رد الفعل المناعي بسيطاً في لحمة الورم ، فيتكاثر النسيج الضام الليفي في اللحمة ويطغى على الخلايا الالتهابية [36]

5- درجة السرطان البشروي الفموي شائك الخلايا

نظراً لأهمية المعطيات السريرية للسرطان الفموي شائك الخلايا فقد ظهر العديد من الأنظمة المساعدة في تحديد المرحلة التي يصل إليها السرطان ، من هذه الأنظمة نظام (system TNM) الذي يقسم درجة الإصابة بالسرطان إلى أربع مراحل سريرية .

ترمز T إلى حجم الورم البدئي tumor ، N إلى حالة العقد اللمفاوية الرقبية Lymph node ، M لوجود لوجود أو غياب النقائل الاستعمارية البعيدة Metastases [37،19،12]

الجدول رقم (ا-2)

في الجدول رقم (1) يبين Booth *B* الترميز الخاص بسرطان الرأس والعنق [38]

Tumor T	Tx	الورم الأولي لا يمكن تقييمه
	To	لا يوجد ورم بدئي
	Tis	ورم موضع
	T1	قطر الورم لا يزيد عن 2سم
	T2	قطر الورم بين 2–4 سم
	T3	قطر الورم أكبر من 4 سم
	T4	قطر الورم أكبر من 4 سم مع غزو عميق للنسج المجاورة
Lymph N node	No	لا يوجد نقائل
	N1	عقدة وحيدة مجسوسة بنفس الجهة وبقطر أقل من 3سم
	N2a	عقدة وحيدة مجسوسة بنفس الجهة وبقطر أقل من3–6سم
	N2b	عدة عقد مجسوسة بنفس الجهة كلها أصغر من 6 سم
	N3a	عدة عقد مجسوسة بنفس الجهة كلها أكبر من 6 سم
	N3b	عدة عقد مجسوسة في الطرفين
	N3c	عقد مجسوسة فقط في الجانب المقابل
Meta stases M	Mo	لا يوجد انتقالات استعمارية
	M1	يوجد دلالات سريرية شعاعية على وجود نقائل استعمارية

ومن أجل تصنيف أكثر دقة قام Booth بوضع الجدول رقم (2) [38,4]

Stage o	Tis	No	Mo
Stage 1	1	O	O
Stage 2	2	O	O
Stage 3	3	O	O
	1	1	O
	2	1	O
	3	1	O
Stage 4 a	4	O	O
	4	1	O
	AnyT	2	O
Stage 4b	AnyT	N3	O
Stage 4c	AnyT	Any N	1

الجدول مقتبس من *B*ooth

6 – تشخيص السرطان الفموي

يوجد نوعان من الفحوص التي يمكن أن تساعد على وضع التشخيص للسرطان الفموي

6-1 الفحوص السريرية و تشمل عدة أمور

* الفحص الذاتي : يعتبر الفحص الذاتي من أهم الفحوص السريرية الضرورية للكشف المبكر للسرطان ، يفترض أن يقوم به المريض من خلال مراقبة كل شكل غير طبيعي في الحفرة الفموية ،ومن ثمّ يتوجب على هذا المريض أن يراجع طبيب الاسنان أو الأخصائي مباشرة عندما يلاحظ وجود أية آفة مزمنة لا تستجيب للعلاج الاعتيادي لأكثر من أسبوعين .

* الفحص الطبي السريري : يتضمن هذا الفحص فحص الفم و الأسنان – فحص الأنسجة الرخوة – فحص البلعوم و البلعوم الأنفي بشكل غير مباشر و جس العقد اللمفية الرقبية و الأجزاء الخلفية من الحنجرة .

* الفحوص الشعاعية تبدأ من الفحص السني الشعاعي البسيط ، لتصل في حال الضرورة الى الفحص الطبقي المحوري و الرنين المغناطيسي في الحالات الصعبة التشخيص [34]

6-2 الفحوص المخبرية : عند الاشتباه بوجود سرطان فموي ، يجب أخذ خزعة و فحصها بالملونات العادية أو الملونات الخاصة الكيميا نسيجية أو الكيمبانسيجية المناعية ، لوضع التشخيص النهائي و الحاسم [34]

7- الوقاية من السرطان البشري شائك الخلايا Prevention

7-1 يبرز هنا دور طبيب الأسنان في الكشف المبكر عن السرطان ، يجب على طبيب الأسنان أن يكون على درجة عالية من المعرفة ، ليتمكن من إجراء فحص سريري شامل دقيق لجميع الأغشية المخاطية ، يجب عدم الاقتصار على فحص الأسنان فقط ، بذلك نتمكن من كشف الآفات قبيل السرطانية في وقت باكر الأمر الذي يعطي المريض فرصة جيدة في تدبير الآفة قبل تحولها إلى سرطان[40،39،26].

يؤيد هذا قول منظمة الصحة العالمية عن السرطانات الفموية بأنها آفة قابلة للوقاية ، و الكشف المبكر لها يمنح إمكانية الشفاء الكامل [14] ، ولهذا السبب يجب الانتباه لحدوث أي تبدل في لون المخاطية أو قوامها أو فقدانها بريقها في أي منطقة من مناطق الغشاء المخاطي الفموي لأن ذلك يمكن أن يكون مؤشراً سريرياً للاصابة بآفة سرطانية أو قبيل سرطانية ، خاصة اذا استمر هذا التبدل السريري مدة تزيد عن الشهر [40] .

7-2 يمكن مشاركة الفحص السريري للفم ، بإجراء التصوير الطبقي المحوري المقطعي Helical Computed Tomography والتصوير ثلاثي الأبعاد 3Dimensional life-sise model [41] أو أخذ خزعة وتحليلها نسيجياً من أجل تأكيد التشخيص[42،49].

7-3 نذكر في الوقاية من السرطان أيضاً ، ضرورة الابتعاد عن الأسباب المتهمة بإحداث السرطان ، أهم هذه المواد التبغ والكحول[43،42] .

7-4 تزويد الجسم بفيتامين A و C ، وتناول الخضار والفواكه الطازجة [44] ، وبعض النباتات التي لها دور في الوقاية من السرطان خاصة البصل والثوم والشاي *ال*أخضر[45]

7-5 أما الرتينوئيد فهو مركب طبيعي أو صنعي مشتق من فيتامين A ، له دور كبير في الوقاية من السرطان عن طريق تنظيم المورثات الكابحة لنمو الأورام، فهو يعطل دورة الخلية و يحث على موت الخلية الورمية [46] .

إن التطبيق الموضعي لفيتامين A على الآفات قبيل السرطانية يفيد في تدبيرها ومنع تحولها باتجاه الخبث[47] .

7-6 يعزز فيتامين E الوظيفة المناعية ، و يكبح تشكل السرطان البشروي عن طريق تحريض عمل المورثات الكابحة لنمو الأورام p53 [48]

8- الإنذار و النكس ونسبة البقيا على قيد الحياة في السرطان الفموي Survival from oral cancer

يعتبر انذار OSCC سيئاً بشكل عام مقارنة بالأورام الخبيثة في باقي أنحاء الجسم [49]

نسبة النكس لإصابات oscc بعد العمل الجراحي تبلغ 38% ، أما عند حدوث استعمار للعقد اللمفية تصبح نسبة النكس 84% من الحالات [50] ، لذلك تعتبر المرحلة السريرية للورم ووقت بدء المعالجة مهما جداً لمعرفة اذا كان oscc قابلاً للنكس أم لا بعد الجراحة [33]

أما نسبة بقاء المرضى على قيد الحياة لمدة أطول من خمس سنوات فهي لا تتجاوز 50% من الحالات [51]، يتعلق هذا بعمر المريض وحالة جهازه المناعي ، ووقت العلاج ، وموقع الورم وامتداده للعقد اللمفية بالإضافة إلى درجة تمايزه النسيجية [51،37،33] ، وقد تبين أن أعلى نسبة من الوفيات تحدث في أول عامين من الإصابة بالسرطان الفموي ثم تنخفض نسبة الوفيات بعد ذلك [52].

يمكن ربط نسبة البقيا على قيد الحياة مع موقع السرطان الفموي فكلما كان موقع الورم أكثر خلفية في الفم تكون نسبة البقيا أقل ، لذلك تكون نسبة البقيا أقل في سرطان البلعوم الفموي مقارنة بسرطان الشفة واللسان [36،33]

إن العلاج المبكر لـ Oscc يؤدي إلى أن أكثر من نصف الحالات ينعمون بالحياة خلال خمس سنوات ، بينما تنخفض نسبة البقاء على قيد الحياة لمدة خمس سنوات إلى أقل من الربع عند المصابين بآفات OSCC عولجت بشكل متأخر بسبب الإهمال أو تأخر تشخصيه [33].

9- العوامل المسببة للسرطان Etiology :

لا يمكن أن نحدد عوامل مسببة نوعية محدثة للسرطان الفموي بسبب كون الآلية المسببة للسرطان عموماً معقدة ومتعددة العوامل [53]

لذلك سنتحدث عن أهم العوامل المؤهبة للسرطان

9-1 استعمال التبغ بكل أنواعه Tobacco :

تدخين السجائر cigarette smoking

يعتبر التبغ بكافة أشكاله المدخن كالنرجيله والسجائر والتدخين المعكوس وغير المدخن كالقات والتنبول من أكثر العوامل المؤهبة لحدوث السرطان الفموي خاصة عند مشاركته مع الكحول [54،12]، و تكون الحالة أسوء إذا كان التدخين بالطريقة المعكوسة [12].

حيث يسبب التبغ تغيرات نسيجية في الفم بشكل عام والأغشية المخاطية المبطنه له بشكل خاص وذلك لما يحويه من مواد كيميائية مخرشة التي تتجاوز الثلاثة آلاف مادة سامة ، بالاضافة لنواتج الاحتراق . و يعتبر القطران و الراتنجيات من أكثر نواتج الاحتراق الضارة التي تؤدي الى :

1- تسمك الطبقة المالبيكية الشائكة للبشرة الفموية .

2- ازدياد في كمية التقرن .

3- حدوث تنكس نظير ليفيني في جدران الأوعية الدموية في النسيج الضام .
4- حدوث تنكس شحمي ضمن الخلايا البشروية [55] .

إنّ تدخين عشر سجائر يومياً يشكل عامل خطر بالغ في إحداث آفات قبيل سرطانية كالطلاوة والتي ربما ستتحول الى سرطان فموي .[12]

أظهرت الدراسات الوبائية ازدياد نسبة الإصابة بالسرطان الفموي وسرطان الرئة بشكل ملحوظ لدى النساء بسبب زيادة عدد المدخنين النساء [12]

تدخين الغليون Pipe smoking :

يساهم تدخين الغليون في إحداث السرطان الفموي ، ويعتبر خطر تدخين الغليون أكبر من خطر تدخين اللفائف العادية(ما لم يتم التدخين بالطريقة المعكوسة [Reverse smoking]) [12]

يسبب تدخين الغليون التهاب الفم بشكل عام و قبة الحنك بشكل خاص بما يعرف باسم التهاب الفم النيكوتيني . الذي يؤدي ربما إلى انقلاب خلوي لبشرة الأقنية المفرغة للغدد اللعابية الصغيرة وخاصةً في المنطقة الخلفية الجانبية من قبة الحنك ، والتهاب اللحمة الضامة لهذه الغدد . مع حدوث فرط تقرن في قبة الحنك . ولحسن الحظ فقد تضاءلت عادة تدخين الغليون في بلادنا ولم تنتشر عند الإناث [56].

التبغ غير المدخن Smokless tobacco

تنتشر عادة مص السعوط ومضغ التبغ Snuff Dipping and tobacco chewing في الهند وجنوب أمريكا على شكل سعوط جاف أو أقراص مضغوطة من التبغ ، يوضع التبغ في الميزاب الدهليزي السفلي لمدة طويلة ، يشكل التبغ غير المدخن لويحات مفرطة التقرن أو سرطاناً ثؤلولياً أو سرطانٍ OSCC [33،4] .

يقوم البعض بمضغ البيتل(التنبول) Betel (pan) chewing . تصنع المواد المستخدمة والملفوفة بورقة التنبول غالباً من بذور نبات الأريقة (شجرة من فصيلة النخليات) والزيزفون (Lime) والتبغ(Tobacco) والتوابل (Spices) ، ثبت أن هذه المواد تحرر مادة الأريكولين (Areclin) المسرطنة [57].

يوضع التنبول في الميزاب الدهليزي السفلي ليسبب مكانه آفات قبيل سرطانية كالطلاوة أو حتى التليف تحت المخاطي الفموي Oral submucous fibrosis وتشير الدراسات بتحول 10% من هذه الحالات إلى سرطانات [33].

ويشيع استعمال القات في بعض البلدان العربية خاصة في القطر اليمني الشقيق [16] ، والنرجيلة التي تزداد خطورتها مع زيادة إقبال النساء على تدخينها، تسبب النرجيلة رفع نسبة إصابة النساء بالسرطانات الفموية[58].

يتعزز دور التبغ أكثر عند المشاركة مع شرب الكحول Alcohol ، تلعب هذه المشاركة دوراً محرضاً أكبر في حدوث السرطان حيث يحل نسبة أكبر من المواد السامة الموجودة في التبغ [33] ، يعتبر البعض الكحول المسبب الأول لحدوث السرطان الفموي ، أما التبغ فيصنف على أنه المسبب الثاني لحدوث السرطان [5] .

9-2 الكحول

تعتبر دراسة تأثير الكحول لوحده كعامل مسبب للسرطان الفموي صعبة لأن عادة شرب الكحول غالباً ما تكون مترافقة مع تدخين التبغ [33] وهذا ما يجعل آلية تأثير الكحول غير واضحة [59] ، لكن ترافق هاتين العادتين يزيد عوامل الخطورة و خاصة عند الإكثار من كليهما [33]

يسبب الاستمرار في التدخين ومضغ التبغ وشرب الكحول خللا في بعض المورثات مما يؤدي إلى الإصابة بآفات سرطانية [60] .

9-3 دور الغذاء

يقلل الغذاء المتوازن الغني بالسمك والبيض وال حبوب ذات الفلقتين والفاكهة من حدوث السرطانات مقارنة مع المرضى الذين يتناولون كميات زائدة من اللحوم [61]، فقد أظهرت بعض الاحصائيات الوبائية ترافق بعض السرطانات الفموية مع وجود نقص واضح في فيتامين A وC و B و E أو نقص في الحديد [62] ، يسبب هذا النقص تبدلات نوعية في عمليات أكسده البشرة مما يجعلها أكثر حساسية و أكثر تأثراً بالتخريش . [62،63]

لوحظ أيضاً ازدياد معدل السرطانات الفموية عند المرضى الذين تناولوا كميات أقل من البيتا كاروتين [63] ورغم ذلك فإنّ نقص التغذية ربما يكون على أشده في بعض البلدان كأفريقيا ورغم ذلك تكون نسبة الإصابة بالسرطانات منخفضة [33] .

يتآزر دور نقص التغذية مع انخفاض الحالة النفسية والاقتصادية والاجتماعية [33] ، وانخفاض مستوى التعليم للمرضى كمؤهب لحدوث السرطانات ، هذا ما أكدته دراسة إحصائية بينت أن أغلب مرضى OSCC هم من الناس المحرومين و الأشخاص العاطلين عن العمل لفترة طويلة [60] .

9-4 اختلاف العرق

لوحظ أن المرضى اليابانين العاملين في بريطانيا أكثر عرضة للاصابة بـ OSCC من البريطانين ، كان تأثير التدخين عليهم أكبر كعامل محرض على السرطان ، ربما يعود هذا لاختلاف عرقي أو إلى تفاوت مرحلة التشخيص للسرطان في الدول المختلفة و اختلاف درجة التشخيص المبكر للآفة [60]

9-5 الأشعة فوق البنفسجية (أشعة الشمس) :

إنّ التأثير المسرطن لأشعة الشمس هو تأثير تراكمي ، ولأن الغشاء المخاطي الفموي لا يتعرض بشكل مباشر لأشعة الشمس فليس لهذه الأشعة دوراً واضحاً في حدوث السرطان داخل الحفرة الفموية ، لكن بالمقابل نجد سرطان الشفة السفلية الذي ينجم غالباً بسبب التعرض للشمس في البلاد الحارة ، يشاهد غالباً لدى الصيادين والفلاحين [64]

وإنّ الأشعة ذات طول الموجة (UVB 3200-2900) أكثر ضرراً في إحداث SCC من الأشعة ذات طول موجة UVB(3400-3200) [64]

9-6 التخريش المزمن

يسبب التخريش الناجم عن التعويضات السنية السيئة رضاً للنسج الفموية، ينتج هذا الرض عن حشوات أو تيجان أو أجهزة جزئية أو كاملة بحواف شئزة ، قد يسبب هذا الرض المستمر حدوث آفات قبيل سرطانية أو سرطانية ما لم يتم تصحيح هذه التعويضات [65] ، كما لوحظت بعض الآفات البيضاء في الحفرة الفموية ناجمة عن استعمال فرشاة الأسنان القاسية ، زالت هذه الآفات بعد استبدال الفرشاة القاسية بفرشاة مناسبة [66] ، تبين أيضاً أن هناك دوراً للأطعمة الحارة في احداث آفات قبيل سرطانية أو سرطانية ، لما لها من دور مخرش للغشاء المخاطي الفموي [67] .

9-7 انتانات الفم والانتان ببعض الحمات الراشحة

تعتبر انتانات الفم والانتان بالحمة الراشحة HIV عواملاً مؤهبةً في حدوث السرطانات الفموية بكافة أنواعها وخاصة لمفوما بوركيت والسرطان الأنفي البلعومي [68]، وكان متوسط أعمار المرضى المصابين بـ OSCC الإيجابيين للحمة الراشحة المسؤولة عن الإيدز HIV هو 47.6 سنة ، في حين كان العمر الوسطي للمرضى الحاملين للأورام ولكن سلبيي الحمة الراشحة HIV هو 60.3 سنة [69] ، تبين أن نسبة الاصابة بسرطان اللسان أكبر بزيادة 5.5 % عند المرضى المصابين بالايدز مقارنة مع المرضى غير المصابين به ، هؤلاء المرضى الايجابين HIVكانت عندهم p53 الطافرة إيجابية بشكل واضح ، هذا يؤكد وجود علاقة بين HIV و OSCC [69].

أما الحمة الراشحة الحليمية البشرية HPV فقد تبين وجود الحموض النووية لها في بعض حالات السرطانات الفموية شائكة الخلايا خاصةً ذات النمط 16 و 18 ، تعتبر حمة HPV من أحد الأسباب المهمة لتشكيل السرطان الفموي [70،71] ، كانت الحمة الراشحة الحليمية البشرية HPV موجودة بنسبة61% في السرطانات الفموية شائكة الخلايا ، وبنسبة 27.1% في الآفات قبيل السرطانية ، وبنسبة 26.5 في الآفات التقرحية [72]، يوجد للحمة الراشحة HPV عدة

أنماط ولكن أكثرها ارتبطاً بـ OSCC النمطان(16 ،18) ، يوجد هذان النمطان من HPV في 37%من السرطانات الفموية شائكة الخلايا، ترافق وجودها مع زيادة التعبير عن بروتينات المورثة p53 ، مما يؤكد أن هذين النمطين من الحمة الراشحة HPV يلعبان دوراً مهماً في التحريض على حدوث السرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفموية OSCC[73] ، أما الحمة الراشحة HPV النمط (11,6) فموجودة بنسبة 4,2% في OSCC [74] ، أي أن احتمال تورطها في التحريض على الإصابة بـ OSCC أقل ، يدعم ذلك دراسة أجريت على جزيرة يابانية ، بينت أن الحمة الراشحة HPV و بشكل أقل EBV Epstein-Barr Virus تلعبان دوراً واضحاً في التحريض على OSCC [75] .

أما عن آلية عمل المسرطنات الفيروسية فيوجد آليتين :

1–ترتبط الكتلة المورثية للحمة الراشحة مع DNA الخلية المضيفة لتحدث فيها الأذية مباشرة .

2–تكون آلية التأثير عن طريق أنزيماتها الفيروسية [76]

9–8 الافرنجيSyphilis

يطرأ على اللويحات البيضاء والتي تتشكل في المراحل المتأخرة من الافرنجي تحولاً خبيثاً إلى سرطان فموي شائك الخلايا ، لذلك يعتبر الافرنجي من العوامل المؤهبة لحدوث السرطان الفموي [33]

9–9 داء المبيضات البيض المزمن chronic candidosis

تؤدي الإصابة المزمنة بالمبيضات إلى تشكل لويحات بيضاء مبرقشة تحتوي على سوء تصنع بشروي أو ما يسمى بالثدن epithelial dysplasia . يطرأ على هذه اللويحات تحولاً خبيثاً إلى سرطان فموي في بعض الأحيان لأنها تنتج مادة سرطانية هي نتروسوبنزيل ميثيل أمين N-nitro sobenzyl methylamine[33،63]

9–10 العوامل الوراثية Genetic factor

أظهرت الدراسات أن بعض المورثات لها دور بزيادة خطورة العوامل السابقة في إحداث السرطان ، يؤكد هذا الكلام النمط الظاهري phenotypic والنمط الوراثي genotypic، كما أن هناك اختلافاً في قدرة DNA على قابلية الترميم عند المرضى وكذلك في استقلاب العوامل المسرطنة بالإضافة إلى اختلاف قدرتها في ضبط دورة الخلية كأنظمة قادرة على إنقاص عوامل الخبث المتعددة [77] .

يمكن لبعض الأمراض ذات المنشأ الوراثي أن تكون عاملاً مؤهباً لحدوث السرطان الفموي (على الرغم من أن هذه العلاقة غير مثبتة) ، نذكر مثالاً على ذلك سوء التقرن الوراثي Congenita dyskeratosis [34] وفقر الدم لفرانكوني وهو مرض وراثي محمول على

صبغي متنحي ، يتصف هذا المرض بفقر دم بنيوي غير تنسجي مع ميل لتطور ابيضاض دم و زيادة في نسبة الإصابة بـ oscc في الرأس و العنق بشكل عام وفي اللسان بشكل خاص [79،78]

يمكن القول أنه على الرغم من أن القصة العائلية للمريض تعتبر عامل خطورة كبير لتطور السرطان ، إلا أنه ليس من المؤكد اصابة أفراد العائلة كلهم ، لأن 90% من الأورام الانسانية هي أورام تحرضها الطفرات في الخلايا الجسمية التي تحدث نتيجة خلل في توازن الدورة الخلوية أو تغيرات في الموت الخلوي المبرمج . [1]

من أهم المورثات التي يمكن أن يطرأ عليها طفرة وتكون مسؤولة عن حدوث التحول الورمي هي المورثات الكابحة للأورام P53 ، والمورثة المسؤوله عن تكاثر الأنوية PCNA التي تنظم نقاط تحقق الدورة الخلوية ، و طلائع المورثات السرطانية التي تحرض على تطور الدورة الخلوية ، المورثات التي تنظم اصلاح ال DNA المتأذي[80،1]

9-11 دور بعض البروتينات والانزيمات في حدوث وترقي السرطان

يوجد العديد من الخمائر البروتينية proteases والخمائر الحالة للبروتين Protelytic enzymes تسهل مرور الخلايا السرطانية إلى النسج العظمية والعقد اللمفية ، يوجد لهذه الخمائر دوراً في مساعدة الخلايا السرطانية على الاستعمار [81].

إن حدوث خلل في الجزيئات اللاصقة للخلايا مثل P-cadherin, E- cadherin يلعب دوراً مهماً في تفعيل الآليات المسؤولة عن تكاثر الخلايا ، وتحول الآفة من قبيل سرطانية إلى سرطانية [82] ، كما تبين أن هناك نشاط لأنزيم التيلوميراز لدى تسرطن الآفة قبيل السرطانية ، لذلك يمكن اعتبار هذا الأنزيم مؤشراً حيوياُ يفيد في معرفة مدى قابلية التسرطن [83].

إن دراسة دور السايكلينات المعتمدة على الكيناز CDK5 cyclin Depended Kinose ومثبطات السايكلين المعتمدة على الكيناز CDK inhabitors بالطرق الكيميائية النسيجية المناعية أظهرت غياب السايكلين D1 والسايكلين CDK2 في البشرة الطبيعية وسوء التصنع البشري ، بينما وجدت هذه السايكلينات في السرطان الفموي شائك الخلايا [84] ،أماالسايكلين E فكان موجوداً في الحالات الشديدة من سوء التصنع البشروي وفي السرطان شائك الخلايا ، ووجدت مثبطات CDK فقط في المخاطيات الفموية السليمة والحالات الخفيفة من سوء التصنع البشروي ولم توجد في الحالات الشديدة من سوء التصنع البشروي[84]

أما أنزيم GSTM1 (Glutahion S Transferase microfilter 1) فوجوده بكمية كافية أمر ضروري جداً لتجنب الإصابة ، لأنه من أنزيمات إزالة السمية ، فإذا قلت كمية هذا الأنزيم عن الحد المطلوب زادت احتمالية حدوث oscc ، وبالتالي وجود استعداد لدى المريض

للإصابة بالسرطان تعتمد على كمية هذا الأنزيم ، و مدى فعاليته ليكون قادراً على تحفيز النموذج الوراثي للشخص للتطور باتجاه الشفاء أوباتجاه التسرطن [85] .

بين Raval ورفاقه [27] في دراسة أجراها أن هناك ارتفاعاً في مستوى حمض السياليك والأنزيم الناقل له Sialy Transferase في المصل مما يشير إلى حدوث تغير في البروتين Alpha 2-6 silyated proteins عند المرضى المصابين بالسرطانات الفموية ، خاصة المرضى الذين لم يبقوا على قيد الحياة فترة طويلة بعد الإصابة ، يمكن اعتبار هذا الارتفاع في مستوى حمض السياليك وأنزيمه الناقل في المصل مؤشرا جيداً لوجود تنشؤات ورمية [27] .

للبروتين Rb Protein Rb و Heat shock protein27 (HSP 27) دوراً في حدوث OSCC حيث تبين زيادة معدل كل من البروتينات السابقة في الخلايا السرطانية في السرطان الفموي شائك الخلايا مقارنة بالخلايا الطبيعية ، هذه البروتينات لها دور في كبح نمو الخلايا الورمية عن طريق تثبيط المورثة P53 [86] .

أما التحري عن درجة التعبير عن البروتين S1oo A2 في SSC ، فقد أظهرت العقد اللمفية التي تعاني من نقائل استعمارية إيجابية بالنسبة للورم نسبة أقل من التعبير عن البروتين S1oo A2 مقارنة بالعقد اللمفية السليمة [87] .

كما لوحظ وجود نشاط للبروتين Stat-3 في الخلايا السرطانية مع زيادة في معدل ظهور الحمض النووي الرسول الخاص بهذا البروتين Stat-3 RNAm في المراحل المبكرة من الورم [88]

9-12 الوراثة و اختلال الصيغة الصبغية لسلاسل DNA :

تتألف المادة الوراثية التي تتحكم بالحياة من أربعة أحرف هي T thymine_ A adenine C cytosine –G guanine

تتحد هذه الأحرف في نمط معين لتشكل عدداً كبيراً من المورثات تحكم الفعاليات الوظيفية ، تنسخ هذه الأحرف الى نواقل mRNA تتكون من أربع أحرف أيضاً وهي u-uracil (a-u-c-g) تجتمع هذه الأحرف في مجموعات ثلاثية تدعى الكودون أو الرامزة ، تترتب بأشكال عديدة لتشكل جملاً هي المورثات [71]، تجتمع الجمل في فصول ، كل فصل يدعى صبغي ، يبلغ عدد الصبغيات 23 زوجاً (22 زوجاً جسدياً و زوجاً واحداً جنسياً) ، عند ترجمتها في الخلية تشكل حموضاً أمينية هي الأساس في البنية الخلوية و الوظيفية [76]

يتألف الصبغي من شريط DNA مضاعف مع مركب بروتيني معقد، يشكل هذين المركبين معاً الكروماتين الذي إما أن يكون مبعثراً و حراً فيسمى الكروماتين الحقيقي euchromatin أويكون كثيفاً و منتظماً فيدعى الكروماتين المغاير heterochromatin [89،1]

9-12-1 المورثات عند الإنسان و المجين البشري human genome

يتراوح عدد المورثات لدى الإنسان بين 30000-40000 مورثة ، تعتبر المورثة الوحدة الوراثية في جسم الإنسان gene ، تؤدي الوحدات الوراثية عملاً معيناً في جسم الإنسان إما أن يكون تركيبياً أو وظيفياً [89] ، هذه المورثات مسؤولة عن الخصائص الشكلية للإنسان مثل لون الشعر ، طول القامة ، لون البشرة ، كما أنها مسؤولة عن الخصائص الوظيفية اللازمة لعمل الإنسان ، كما أنها تحمل أيضاً المعلومات الضرورية لتطور البيضة الملقحة إلى إنسان بالغ ، تتشكل الطفرة عند حدوث أي خلل في ترتيب نكليوتيدات المورثة ، إما أن لا يكون لها أي أثر يذكر على العضوية أو تكون مسببة لأذية كبيرة و ذلك حسب مكان الطفرة [90,1] .

تأتي أهمية دراسة المجين البشري من إمكانية اكتشاف طرق علاجية جديدة للكثير من الأمراض و على رأسها السرطان ، كما أنه سيمكننا من السيطرة على الأمراض الوراثية .

بدأت دراسة المجين البشري منذ 1980 و انتهت في عام 2003 مع درجة عالية في الدقة تصل إلى 99.99% ، تم تحديد الخريطة الوراثية للمورثات بتحديد مكان توضع المورثات على الصبغيات و تحديد مواضعها بالنسبة لبعضها [90،28]

تعتبر دراسة هذه الخريطة الوراثية أو ما يسمى المخطط الوراثي للبشر مهمة جداً ، لأنه بناء عليها ستكون المعالجة في المستقبل عن طريق تحري التغيرات الحاصلة على هذا المخطط .

أظهر استخدام المعلوماتية و الدراسات الاحصائية أن هناك 651 مورثة تشترك في إحداث السرطان [24]

9-12-2 أنواع المورثات عند الإنسان

- المورثات المفردة single genes

تكون على شكل نسخة واحدة و في الصيغة الثنائية ، توجد على الصبغي و قرينه ، تكون غالبية مورثات المجين البشري من هذا النوع .

- عوائل المورثات gene families

تشكل بعض المورثات مجموعات تسمى عائلة ، تنتج هذه المورثات بروتينات متقاربة بينما عائلة أخرى من المورثات تنتج بروتينات متشابهة و متقاربة أيضاً ، لكنها لا تشبه بروتينات العائلة الأولى

- العوائل الفائقة للمورثة gene super families

تكون العائلة هنا كبيرة ،تتألف من عدد كبير من المورثات ، تتشارك مع مورثات أخرى إنتاجها مختلف ، لتؤدي وظيفة أو عمل معين، نذكر مثالا عليها عائلة مورثات التوافق النسيجي الكبير

- المورثات الخدمية house keeping genes

تؤدي هذه المورثات وظائف خدمية ، مثل الوظائف الاستقلابية العامة للخلايا ، توجد في جميع أنواع الخلايا ،نذكر مثالا عليها مورثات التحلل السكري في حلقة كريبس

- المورثات الكاذبة pseudo genes

تسمى المورثة التي يطرأ عليها خلل ما أو طفرة معينة مورثة كاذبة ، تكون هذه المورثة صعبة التهجين ، تسمى المورثة الأم بالمورثة السليفة [90،1]

9-12-3 اختلال الصيغة الصبغية لسلاسل DNA

يعتبر اختلال الصيغة الصبغية لسلاسل DNA وعدم استقرار العوامل الوراثية من العوامل التي تلعب دوراً في بدء وتطور سرطانات الرأس والعنق [92،91]، يتسبب هذا الخلل بدور واضح في زيادة خطورة السرطان .

تمت دراسة المخطط الوراثي للانسان من أجل فهم التغيرات المرضية في الحفرة الفموية على المستوى الوراثي ، لقد كان عدم استقرار العوامل الوراثية 100% في oscc و هذا يؤدي الى زيادة العلائم النسيجية العدوانية للآفة [93] ، ولم يكن هناك علاقة بين عدم استقرار العوامل الوراثية في oscc وموقع الورم أو حتى المرحلة التي وصل لها الورم [92] .

تنشأ الأورام الخبيثة نتيجة حدوث تغيرات وراثية عديدة ومتراكمة في مناطق الصبغيات المتغايرة التي تحتوي على مورثات عديدة ومن بينها المورثة الكابحة لنمو الأورام ، مما يؤثر على الخلايا البشروية الطبيعية الفموية ويدفع بها للتحول نحو oscc ، أهم هذه التغيرات هو حدوث انحراف وظيفي للمورثة P53 الكابحة لنمو الأورام ، حيث تلعب هذه المورثة دور المفتاح في الآلية الامراضية الخاضعة للمورثات وحتى في ترقي الإصابة مما يؤثر على المعالجة [94] ، لوحظ وجود خلل في المورثة P53 في أكثر من 50% من السرطانات متضمنة سرطانات الرأس والعنق لذلك نشاهد في السرطانات أن هناك زيادة غير طبيعية في البروتينات الطافرة للمورثة P53 في الخلايا الورمية .

إن التغيير الحاصل في المورثة P53 يجعلها تتصرف كمورثة ورمية ، مما يؤدي إلى تراكم بروتيناتها في السرطانات البشر وية شائكة الخلايا [95] ، مما يدل على وجود علاقة بين درجة التطور السريري للورم و مقدار التغير الحاصل في المورثة p53 الذي يزداد مع تقدم العمرأيضاً .[96]

يتآزر عمل المورثة P53 أحياناً مع مورثات ورمية أخرى مثل Ras [97]، وهو من عائلة بروتينات موجودة داخل الخلايا بما في ذلك الخلايا البشر وية تسمى GTPase الصغيرة وهي بروتينات مسؤولة عن نقل إشارات داخل الخلايا ، ويعتبر Ras البروتين النموذجي في هذه العائلة من البروتينات ومسؤولٌ عن تنظيم السلوك المتنوع للخلية [99،98].

Ras هو اختصارلساركوما الجرذ Rat Sarcoma حيث اكتشف أول بروتين من عائلة البروتينات هذه ، و يشير ras لعائلة الجينات التي تشفر هذه البروتينات [98].عندما ينشط Ras بالإشارات الخلوية فإنه يحفز بروتينات أخرى ،مما يؤثر على الجينات المس ؤولة عن النمو الخلوي والتمايز وفترة البقاء . فالتغيرات الحاصلة في جينات ras يمكن أن تسبب إنتاجاً دائماً من بروتينات ras نشيطة ، مما يُحدث فرط نشاط غير مقصود داخل الخلايا ، حتى في حال غياب الإشارات المنقولة [100].

تؤدي هذه الإشارات إلى التحريض على النمو الخلوي و الانقسام ، مما يمكن إشارة ras شديدة النشاط من إحداث سرطان خلوي . هذا يجعل ras من أكثر المورثات الورمية الشائعة في السرطان البشروي [100،98]. وقد تبين أنّ التغيرات التي تسبب نشاطاً دائماً في بروتينات Ras موجودة في 20–25% من الأورام البشروية ، و تصل أحياناً إلى 90% في أنواع معينة من السرطان مثل سرطان البنكرياس [100].

إن العينات التي لم تبد استقراراً في سلاسل DNA كانت تتسم بوجود زيادة في معدل كل من المستضد النووي لتكاثر الخلايا proliferation cellular nuclear PCNA antigen وعامل النمو البطاني VEGF [93] vascular endothelial growth factor .

وقد تبين من خلال دراسة التركيب الجزيئي للمورثات باستخدام المعلوماتية والإحصاء أن هناك 651 مورثة تشترك في إحداث السرطان ،الأمر الذي يجعلنا نجزم أنّ المعالجة الفعالة للسرطان يجب أن تعتمد في المستقبل على دراسة و ربما إصلاح التغييرات الحاصلة في المخطط الوراثي للبشر [24]

أما عن طبيعة التغيير الحاصل في المنطقة الوظيفية للمورثة P53 فهي codon175 من منطقة (سيتوزين– غوانين– سيتوزين) للحمض الأميني أرجنين إذ يتحول إلى (سيتوزين – تيمين– سيتوزين) للحمض الأميني اللوسئين .

وهذا التغيير يحدث في المورثة P53 في 45–70 % من الخلايا عند مرضى السرطان البشروي شائك الخلايا [101] ، نذكر هنا دورالبروتين الورمي murine double minute 2(MDM2) الذي يثبط وظيفة المورثة p53 ، لكنه لا يرتبط مع تراكم بروتينات المورثة p53 [102] .

تبين أيضاً أن هناك علاقة قوية بين زيادة التعبير عن المورثة p53 الكابحة لنمو الورم و زيادة ki67 المسؤول عن تكاثر الخلايا في الأورام منخفضة التمايز ، و أن هناك تناسباً عكسياً بين زيادة الاصطباغ بكاشف ki67 وبعض العلائم النسيجية مثل درجة التقرن و حجم

اللحمة الضامة للورم ، لكن لا يوجد أي ارتباط أو علاقة بين زيادة التعبير عن ki67 وردة الفعل المناعي أو العقد اللمفية المشمولة أو حجم و سماكة الورم أو عمق الغزو و معدل الانقسام ، يدل هذا على أننا لا يمكن اعتبار ki67 وحده وسيلة تشخيصية للسرطان oscc [103] .

تؤدي المعالجة الشعاعية للورم إلى حدوث تشوش في التعبير عن هذه المورثة، لأن التشعيع المزمن للورم يسبب تثبيطاً لوظيفة المورثة P53 ، كما يسبب خللاً في استقرارها [104،96].

أثبتت الدراسات على السرطان البشر وي شائك الخلايا أنه يوجد خلل واضطراب في 81% من المورثة P63 و 47% من المورثة P73 و 47% من المورثة P53 ، تشترك هذه المورثاتP63 ، P73 ، P53 في أنها من المورثات الكابحة لنمو الأورام ، ولكن لا تستطيع المورثة P63 ولا المورثة P73 أن تحلا وظيفياً مكان المورثة P53[105،103] .

تبين الدراسات أن هناك تنسيقاً بين المورثتين bcl2 ، P53 ، يؤدي إلى تفاقم السرطان [105] ، وأنّ تغير التعبير عن المورثة bcl2 يعبر عن حدوث خلل في الموت المبرمج للخلايا program cell death ، يزيد هذا من تقدم السرطان ، فكلما زادت درجة التعبير عن المورثة P53 ، bcl2 ، Ki67 زادت خطورة الآفة ، وزاد احتمال انتقال البشرة من الوضع الطبيعي إلى فرط التصنع ثم إلى سوء التصنع ثم إلى السرطان [106،103] .

إنّ التشوش الجزيئي الحادث في سلاسل DNA في المورثة p15-p16-p53 يحدث بسبب شذوذ في الجذور الميتيلية لهذه المورثات أو لواحدة على الأقل من المورثات الكابحة لنمو الأورام [107] .

10– المورثات الورمية المتورطة في حدوث سرطانات الرأس و العنق

10–1 المورثات الكابتة للورم

وجدت طفرات شائعة في المورثات الكابتة للورم في سرطانات الرأس و العنق ، لذلك يعتبر التحري عن هذه المورثات عاملاً إنذارياً هاماً ، أما آلية عمل هذه المورثات فهي تكبح نمو الأورام بإيقاف تطور الدورة الخلوية [34،1] و أهم هذه المورثات

10–1–1 المورثة TP53

تعتبر هذه المورثة حارسة المورثات البشرية و هي موجودة على الصبغي 17 ، تساهم في السيطرة على الدورة الخلوية و انسخ الـ DNA و إصلاحه وتعمل بآليتين

توقف الدورة الخلوية في المرحلة G1 في حال وجود تخرب في الـ DNA ، لتعطي الوقت الكافي لإصلاح هذا التخرب.

تحث الموت الخلوي المبرمج في حال حدوث فشل في إصلاح هذا الخلل [34]

تتآزر هذه المورثة الورمية مع مورثات ورمية أخرى في بعض الأحيان مثل (Ras bcl2)[97] نجد بذلك أن هناك دوراً مهماً للمورثة TP53 في الآلية الإمراضية لسرطانات الرأس و العنق ، فقد لوحظ وجود خلل في المورثة TP53 في 50 % من سرطانات الرأس و العنق ، يوجد أيضاً علاقة بين هذه المورثة وإنذار الورم من نكس أو انتقالات بعيدة أو يكون سبباً للوفاة [34]. إن حدوث طفرات في هذه المورثات الكابحة لنمو الأورام ، يرمز بروتينات معيبة ، مما يفقد هذه المورثات وظيفتها الطبيعية ، كما يمكن أن تختل وظيفة هذه المورثات عند تشكيل مركبات من أليل طبيعي مع أليل طافر ، يحدث هذا أيضاً عندما ترتبط المنتجات البروتينية لهذه المورثات مع منتجات الفيروسات المسرطنة مما يسبب تعطلها [28،14].

التغير الحاصل في المورثة P53 يجعلها تتصرف كمورثة ورمية ، يؤدي ذلك إلى تراكم بروتيناتها فتلعب بذلك دور المفتاح في الآلية الإمراضية الخاضعة للمورثات .

من جهة أخرى يرى Hsia [94] أن زيادة درجة التعبير عن بروتينات المورثة P53 ليس له علاقة بالدرجة النسيجية لـ oscc [94]

10-1-2 مورثة الورم الأرومي الشبكي Rb

10-1-3 مورثة p16 – p21 -p57- p27

يثبط البروتين P27 المورثة P53 الكابحة لنمو الورم [86] ، و ينظم السيكلين P27Kip1 الذي يثبط بدوره هجرة الخلايا السرطانية ، تكون نسبة التعبير عنه في المراحل المبكرة من OSCC أعلى بشكل واضح من نسبة التعبير عنه في المراحل المتأخرة من السرطان [108]

10-2 المورثات التي تنظم الموت الخلوي المبرمج

أهم هذه المورثات المورثة bcl2 فزيادة التعبير عن هذه المورثة في الخلايا الورمية ،يؤهبها للبقاء مدة طويلة فتصبح أكثر عدوانية [28،3] ولذلك فإن حدوث خلل في التعبير عن بروتينات المورثة bcl2 يمكن أن يعطينا معلومات إضافية عن إنذار الحالة السريرية للآفة ، فعندما يزداد التعبير عن بروتينات هذه المورثة يزداد ترقي الورم و تطوره السريع [103] ، أما إذا تآزر عمل المورثتين bcl2 - p53 فإن هذا سيؤدي إلى تفاقم الاصابة أكثر [105]

10-3 المورثات الورمية لسرطانات الرأس و العنق نذكر

10-3-1 السيكلينات : هي بروتينات متغيرة الحجم ، تصنف في أربع فئات A-B-D-E ، تقوم هذه السيكلينات بتنظيم تطور و انقسام الخلايا ، لذلك نجد أن التعبير عنها يزداد أو ينقص في مراحل الدورة الخلوية المختلفة ، ترتبط هذه السيكلينات بالكينازات مرتبطة السيكلين لتشكل معقدات هامة تنظم آلية الانقسام [1]

أ –يقترن سيكلين D مع CDK6 وسيكلين D مع CDK4هذه السيكلينات من شأنها أن تنظم التطورفي المرحلة G1 فتنظم دخول الخلايا من الطور G0 إلى الطور G1 ، تقوم عوامل النمو و الإشارات الخارجية عبر طريق الاشارة Ras GTPase بتنظيم تلك الآلية ، يوجد لسيكلين D ثلاثة أشكال هم سيكلين D1-D2-D3 ، كما أن سيكلين D يفسفر بروتين (RB (Retino blastoma الذي يحرر (E2F) عامل ترجمة مورثات تضاعف DNA

ب –أما سيكلين A فيرتبط إلى CDK2 ، هذا ضروري لتحضيرالنواة و ال DNA . للتضاعف ، كما أن ارتباط سيكلين A مع CDK2 يساعد سيكلين E المرتبط مع CDK2 في إجبار الخلية على تصنيع DNA وبذلك يتم الانتقال من المرحلة G0إلىS

ج– أما سيكلين B فيرتبط مع CDK1 ، يضمن هذا الارتباط عدم انقسام الصبغي قبل ارتصاف الصبغيات البنات بشكل مناسب و اكتمال التشكل المغزلي

تختلف تراكيز السيكلينات في أطوار الدورة الخلوية المختلفة ، تنفصل السيكلينات عن CDK عندما تكون تراكيزها منخفضة ، أما عندما تكون تراكيزها مرتفعة فإنها تتحد معه ، كما أنه من المحتمل أن تتثبط الفعالية بمورثات كابتة للورم أهمها (P16-P21-P27) [34،1]

يوجد مجالي ارتباط متشابهين في السيكلينات

الأول : يتوضع على النهاية N (نهاية أمينية NH2)

الثاني : يتوضع على النهاية C (نهاية كربوكسيلية COOH)

يعتبر فرط التعبير عن مورثة سيكلين D1 مهماً جدا في تقييم الطفرات الحاصلة في أورام الرأس و العنق ، كما لوحظ أن هناك علاقة بين فرط التعبير و التضخم الجيني لسيكلين D1 من جهة ، والنكس والانتقالات العقدية و الموت من جهة ثانية ، كانت مثلاً نسبة السيكلين D1 أعلى في الحالات المتقدمة منOSCC المترافقة مع وجود نقائل إلى العقد اللمفية الناحية [108]

أما سيكلين E فكان موجوداً في الحالات الشديدة من سوء التصنع البشروي وفي السرطان شائك الخلايا أيضاً [1] و الجدول رقم (3) يبين ذلك

تعتبر السيكلينات و الكينازات مرتبطة السيكلين لهذا السبب هدفاً للمعالجة ضد السرطان ، و تم إنتاج أدوية مثبطة للسيكلينات و الكينازات مرتبطة السيكلين [109،1]

الجدول رقم (3) يبين وجود السيكلينات مع الكينازات المرتبطة السيكلين في كل أطوار الدورة الخلوية

طور الدورة الخلوية	السيكلين	الكينازات مرتبطة السيكلين
G1	D E	CDK2 CDK4 CDK6
S	A E	CDK2
G2	A	CDK2
M	B	CD K1

10-3-2 المورثة (STAT3)

تفيد المورثة(STAT3)في الكشف المبكر عن السرطان الفموي الناتج عن مضغ التبغ ، يزداد نشاط هذا البروتين مع بداية تشكل السرطان الفموي ، ينقل هذا البروتين إشارات من السيتوكينات و مستقبلات عامل النمو إلى الجينات المستهدفة في النويات ، يغيب هذا البروتين في النسج الطبيعية و يزداد نشاطه مع ازدياد تطور السرطان ، يعمل بآلية غير معروفة في كبح الموت المبرمج للخلايا [88]

10-3-3 عامل النمو البشروي EGF

ينجم الورم لدى الإنسان عن تفعيل مورثات ورمية بشكل متسلسل ، وتعطيل المورثات المثبطة للورم ، تنشأ هذه التغييرات إما عفوياً دون مبدئ لها نتيجة حصول أذية في DNA وعمليات الإصلاح الطبيعي ، تحدث هذه التغييرات التلقائية العفوية بمعدل (6 نكليوتيدات سنوياً) ، يحرض بعضها على حصول السرطان . أو تكون التغييرات غير عفوية ، تحدثها مسببات فيزيائية أوكيمائية أوحيوية (80% من حالات السرطان مسببة عن عوامل خارجية)[1].

لا يمكن إصلاح هذه التغييرات الكبيرة إلا بالتداخل الخارجي(تقنية التأشيب والعلاج المورثي) [90]

تنتج المورثات الورمية قبل تفعيلها بروتينات مسؤولة عن نمو و تمايز الخلية ، تسمى هذه المورثات بطلائع المورثات الورمية ، ينتج عن تفعيلها تغير في الوظيفة الخلوية ، يؤدي ذلك إلى النمو الخلوي وتطور الورم [3،1] ، حتى يحصل هذا التطور يجب أن يكون عدد التغيرات المورثية من 6-10 تغيرات مورثية على الأقل [68]

نذكرمن أهم المورثات السرطانية مستقبل عامل النمو البشروي الإنساني EGFr [111،110]

EGFr مستقبل عامل النمو البشروي هو غليكو بروتين عابر للغشاء الخلوي [113،112] ، يتوضع على الصبغي 12P7 [111] ، تتضمن عائلته مجموعة مورثات (HER1-HER2-

HER3-HER4) ، وزنه الجزيئي 170–180 كيلو دالتون ، يستطيع تحريض النمو والتكاثر بتحريض الخلية على الانتقال من المرحلة G0 الى G1 من مراحل الدورة الخلوية ، و يسمح باستمرار بناء المكونات الضرورية في المرحلة G1 [14،34،112،113،114،115] لذلك يعتبر EGF من أهم المورثات المتورطة في OSCC لأنها تتحكم بالدورة الخلوية [116،117]

10-3-3-1 دورة الانقسام الخلوي و أطوارها

يهدف الانقسام الخلوي إلى إنتاج خليتين بنتين تماثلان الخلية الأم ، تعتمد مواقيت الانقسام الخلوي على صف من البروتينات المعقدة في النواة و السيتوبلاستما [1،118]

قسمت الدورة الخلوية إلى أربعة أطوار رئيسية :

١ -طور نمو الخلية وازدياد حجمها gap 1 (G1).

يستمر هذا الطور من 5 – 11 ساعة ، يعتبر أطول الأطوار، تنتقل بعده الخلية إلى المرحلة التالية ، أو تخرج من الدورة لتدخل في المرحلة (Go) مرحلة انتهاء تمايز الخلية

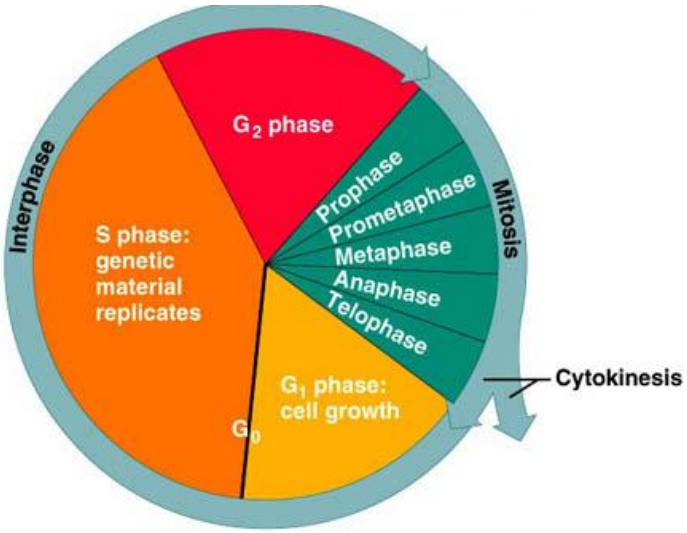
٢ -طور تصنيع DNA synthesis (S) DNA

هنا تزداد المادة الوراثية لتتضاعف في الخلية ويستمر هذا الطور تقريباً 7 ساعات

٣ -طور التحقق من تصنيع gap2 (G2) DNA يستمر هذا الطور 3–4 ساعات ، يتم فيه تهيئة الخلية للإنقسام [1،68]

٤ -طور الانقسام الخلوي (M) Mitosis يستمر هذا الطور حوالي 1.5 –2 ساعة ، يتم فيه انقسام المادة الوراثية في الخلية لتعطي خليتين بنتين متشابهتين تماثلان الخلية الأم نجد في طور الانقسام خمسة أطوار:

- الطور الأول prophase : يتوضع الجهاز المغزلي في الطرف المقابل للنواة ، وتتوضع الصبغيات بشكل مزدوج ومتناوب مرتبطة بالسنتومير
- طليعة الطور التالي prometaphase : تنقسم النواة فيه إلى أجزاء عديدة
- الطور التالي Mysophase : تتشكل أقطاب الجهاز المغزلي ، وتتوضع الصبغيات على الجهاز المغزلي في منطقة الوسط بشكل مزدوج.
- طور الصعود Anaphase :تصبح فيه الصبغيات مفردة بعد أن كانت مزدوجة ، تبدأ بعدها بالتحرك إلى القطب المعاكس من الجهاز المغزلي لتعطي الكروماتين لخليتين بنتين .
- الطور الانتهائي telophase : تنقسم الخلية إلى خليتين بنتين ، يزول الجهاز المغزلي [119،120]



الشكل رقم (1) رسم توضيحي(مفصل) لكل طور من أطوارالدورة الخلوية

تخضع هذه الدورة الخلوية إلى برنامج مراقبة ، يتألف من العديد من البروتينات ، يؤخر برنامج المراقبة هذا الدورة الخلوية في حال وجود خطأ ما ريثما يتم إصلاحه ، يحدث هذا فعلا عندما تحاول الخلية مضاعفة DNA متأذٍ ، فإن تم الإصلاح تتابع أطوار الدورة الخلوية ، أما إذا كان الضرر كبيراً فإن الخلية تدخل بما يسمى تتالي الموت الخلوي المبرمج .

أهم البروتينات المتحكمة بذلك P53 ، ومن البروتينات الأخرى التي تتحكم بالدورة الخلوية زمرة السيكلنيات ، وزمرة الكنيازات مرتبطة السيكلين ، وزمرة البروتينات مثبطة الكيناز مرتبطة السيكلين ، MPF عامل التحفيز النضجي Mitosis-promoting factor الذي يعلب دوراً في نضج الخلايا [1]

يتم التحكم بأطوار الدورة الخلوية عن طريقين

١ -إشارات من داخل الخلية مثل زمرة الكينازات ، تنزع هذه الزمرة الفوسفات من ATP لتضيفه إلى جزيء آخر.

٢ -إشارات من خارج الخلية مثل EGFR ، الذي يحرض النمو و الانقسام الخلوي ، أو يثبط النمو مثل مثبط التماس ، إذ تتوقف الخلايا عن الانقسام عندما يصل حجم الخلية المنقسمة و عددها إلى حد يسبب تماسها مع بعضها البعض [28،34]

10-3-3-2 نقاط التحقق

تتميز الدورة الخلوية بوجود العديد من آليات المراقبة ، تسمى نقاط التحقق ، مهمتها التأكد من كل الظروف و العناصر الضرورية للانتقال من مرحلة إلى أخرى ، هذه النقاط هي

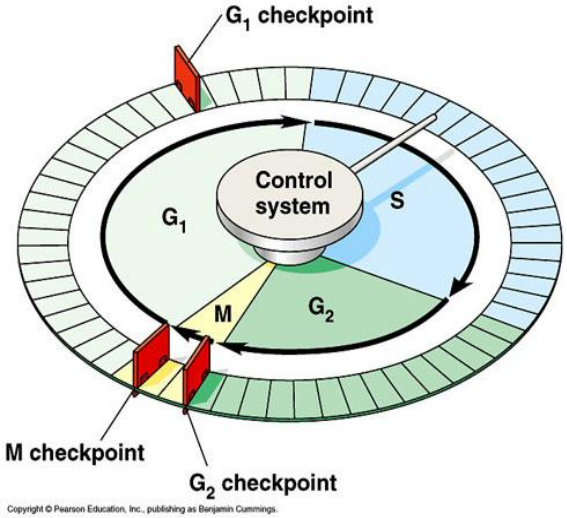
* **نقاط التحقق G1\S** تقرر فيما اذا كان DNA الخلية متأذي أو لا ، و تقرر وصول الخلية الى الحجم المناسب ، إذا حاولت الخلية مضاعفة DNA متأذي ، فان نقطة التحقق هذه سوف توقف التضاعف و ستعمل على تشكيل تكسرات في الـ DNA المتأذي ، لمنع انتاج خلايا بنات طافرة ، تؤخر بذلك نقطة التحقق هذه الدورة الخلوية ، ريثما تتم عملية الإصلاح و الترميم ، لتنتقل الى المرحلة التالية . ومن أهم المعقدات التي تتدخل هنا وهي : سيكلين CKK2- E- CDK4 سيكلين D – s-phase promoting factor SPF المؤلف من سيكلين A مرتبط مع CDK2 الضروري لتحفيز النواة و ال DNA للتضاعف [79]

* **نقاط التحقق G2\M** يتم هنا تقييم اكتمال تضاعف DNA ، يعتبر MPFعامل تحفيز الانقسام أهم عامل ، لأنه يبدىء طور الانقسام في الدورة الخلوية (الطور M) ، يتألف هذا العامل من بروتينين

بروتين cyclin B يكون تركيزه قليل في بداية الطور G1 ، يزداد بقدر ما تنمو الخلية ليرتبط مع CDK عندما يصل العدد الجزيئي له إلى العدد المطلوب للاتحاد.

بروتين CDK وهو بروتين كيناز ثابت الكمية، ينقل مجموعة الفوسفات من الشكل الجزيئي مثل ATP إلى حمض أميني معين في البروتين ، مما يسبب تحفيزه ، يسمى هذا الانتقال لزمرة الفوسفات إلى البروتين بعملية الفسفرة phosphorylation ، علما أن CDK لا يعمل إلا إذا ارتبط مع السيكلين ولذلك سمي الكيناز مرتبط بالسيكلين .

- **نقاط التحقق M** تتحقق من أن DNA الخلية المتضاعفة متناظر، ذلك بالتأكد من أن الصبغيات تنتقل بشكل صحيح للخلايا البنات [110،1].



الشكل رقم (2) شكل مبسط لنقاط تحقق الدورة الخلوية

10-3-3-3 دور عامل النمو البشريEGF في حدوث Oscc

يحرضEGF على التكاثر البشروي [121،122] و على هجرة خلايا OSCC لذلك فإن ممرات EGFr يمكن أن تكون هدفاً في معالجة OSCC و تطوير المعالجة الشعاعية [121].

يوجد EGFr بشكل كبير على الغشاء الخلوي لخلايا SCC [122،123] ، يعتبر مستقبلاً أحادي الرابطة ، يضخم الإشارة المرسلة من أحد أفراد عائلة جين HER بواسطة التثنية المتغايرة للرابطة المستقلة المفعلة [124]

تتألف منطقة عامل النمو البشروي من سلسلة ببتيدية مفردة تضم 186 حمضاً أمينياً و تشكل ثلاث مناطق رئيسية هي :

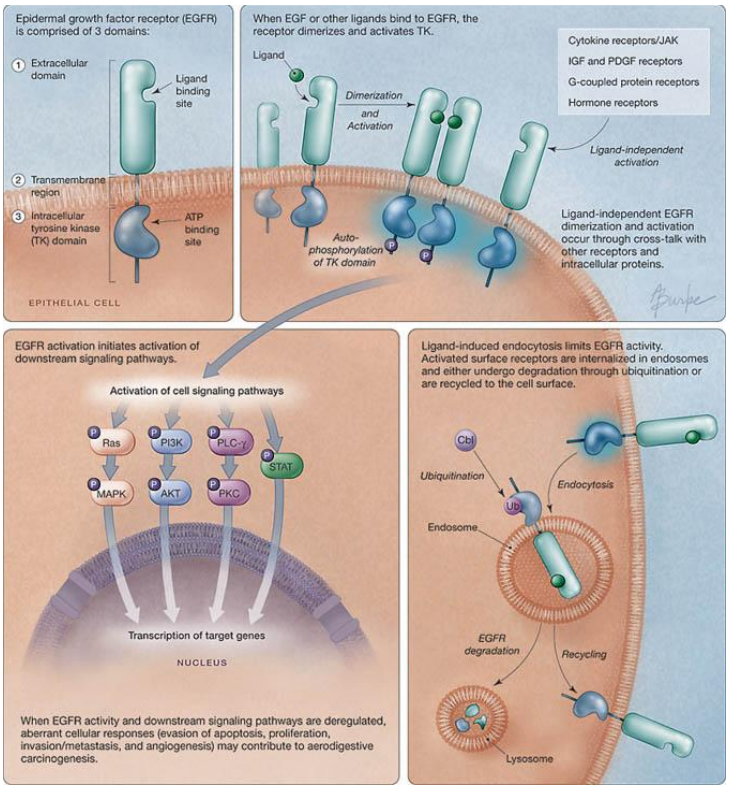
١ منطقة اللجين (الارتباط) تشكل القسم الرابط للعوامل المحرضة .

٢ قطعة شحمية عبر غشائية.

٣ منطقة كيناز بروتيني داخل خلوي[3]

يؤدي حدوث تغير في بنية EGFR (تضخم المورثة) إلى ارتباط عامل التحول على منطقة اللجين (منطقة الارتباط) خارج الغشاء الخلوي وهذا ما يفعّل بروتين الكيناز داخل الخلوي بواسطة عملية فسفرة ذاتية للهيولي وهذا بدوره يفعل بروتينات ضمن الهيولي تثير شلال الإشارة بدءً من الهيولي لينتقل إلى النواة عبر طريق RAS [125] ، تمثل بروتينات RAS أنزيمات GTP الثلاثة /H-RAS /K-RAS / N-RAS / وهي بروتينات صغيرة الحجم الجزيئي ، تحول عند ارتباطها ثلاثي الفوسفات غوانوزين GTP الفعال إلى ثنائي الفوسفات GDP الغير فعال ، يفعل ارتباط RAS إلى GTP بروتين راف كيناز Raf Kinas الذي يفسفر العديد من جزيئات إشارة الشلال التي تدخل بدورها إلى النواة ، وتفعل العديد من عوامل الترجمة الضرورية للمورثات المسؤولة عن تنظيم الدورة الخلوية كالسيكلينات [1]

هناك طريق آخر لإيصال الإشارة إلى النواة عبر الطرق الفوسفو شحمية مثل (C-Y , Stat) ، تفعل هذه شلال الإشارة عبر أنزيمات أخرى مثل بروتين كيناز ب (PKB)



الشكل رقم (3) إشارات EGF

يترجم وصول شلال الإشارة إلى النواة إما بالتأثير على النمو والتمايز ، أو تأثيرات على توليد الأوعية الدموية ، مما يسهل الغزو والانتقالات [65]

وجد فرط التعبير عن EGF في سرطانات الرأس و العنق بنسبة كبيرة ،مما يعكس المكانة الحيوية و الدور الواضح له كمبدئ و محرض و مطور للآفات الفموية السرطانية [119،65]، فدرجة التعبير عن EGF عالية في OSCC وتلعب دوراً واضحاً في تحفيز ترقي و هجرة الخلايا البشروية وبالتالي انتقال الخباثات الفموية [114]

يسبب تفعيل EGF آثاراً واسعة ، فهو يزيد التكاثر الخلوي ، ويؤثر على التنشؤ الوعائي والنضج والغزو والاستجابة للموت والهجرة [126] ، مما يسهل الغزو والانتقالات [65]

ينظم عامل النمو البشروي الموجود في اللعاب الدورة الخلوية ، فهو يحرض على تكاثر وحركة خلايا البشرة الفموية ،وبالتالي يساعد على شفاء جروح المخاطية الفموية المتأذية ، و لكنه أيضاً قد يساعد على هجرة الخلايا البشرية مما يمكنه من أن يلعب دوراً في الانتقالات الورمية [122]

يوجد EGFR بنسبة كبيرة تتراوح بين (43-92%) في سرطانات الرأس والعنق ، حيث تكون النسبة الأكبر في الأورام سيئة التمايز والآفات كبيرة الحجم [127].

تم تحري التعبير عن أربعة من EGFR mRNA في OSCC كانت مستويات التعبير عن HER1-HER2-HER3-HER4 mRNA في OSCC أعلى مقارنة بمستواها في النسج الطبيعية [128] . يرتبط مستوى EGFR عكسياً مع مستوى Gamasecretase في الخلايا المصورة لليف ، وبالتالي يعمل هذا الأخير في البشرة ككابت للورم بسلوك معتمد على النشاط الأنزيمي.

يحفز EGFR فرط تكاثر خلوي في البشرة مع انخفاض وراثي في الغاما سكريتز ، مما يساعد ربما في المستقبل على اختيار الاستراتيجية العلاجية المناسبة لهذا النوع من السرطانات البشرية [129] يحرض EGFR على التشكل الوعائي في الأورام [130،131]، يشير وجود الخلايا البدنية إلى زيادة التنشؤات الوعائية في بعض الأورام الخبيثة عن طريق الأنزيم Tryptase ، يثبط هذا الأنزيم تنظيم التشكلات الوعائية في OSCC ، مما يؤدي إلى زيادة عدد الأوعية الدموية الشعرية [131] . وقد تبين أن هناك علاقة بين درجة قرب الخلايا البشروية الخبيثة من الأوعية الدموية الشعرية أو اللمفية و بين عدد الخلايا البشروية المبدية لعلائم الخبث الخلوي، فكلما كانت الخلايا الورمية متباعدة و متناثرة في النسيج الضام ، كان احتمال تواجد الخلايا البشروية الخبيثة قرب الأوعية الدموية الشعرية واللمفية أكبر [131] ، وقد وجد lenczewski أن الأشخاص الذين بقوا على قيد الحياة فترة أطول حتى خمس سنوات ، كانت كثافة الأوعية الدموية الصغيرة عندهم أقل مما هو عليه عند الأشخاص الذين بقوا على قيد الحياة أقل من خمس سنوات وبالتالي فإن وجود وتشكل هذه الأوعية الدموية الشعرية بشكل كثيف له دور في زيادة الخطورة في السرطانات الفموية شائكة الخلايا [132] . بينما يرى Ranier إن وجود نسبة عالية من الأوعية الدموية عند المرضى المصابين بالسرطان ، يكون عندهم فرصة أكبر للبقاء فترة أطول على قيد الحياة من المرضى الذين كان عندهم نسبة أقل من الأوعية الدموية [133] .

لا حظ Shemirani ورفاقه أن الخلايا السرطانية تقوم بإفراز عوامل إذابة تحث تكاثر وهجرة الخلايا البطانية للأوعية الدموية ، أكثر هذه العوامل هو عامل النمو البطاني VEGF ،وقد ترافقت زيادة هذا العامل مع زيادة التوعية الدموية والنقائل الاستعمارية الى العقد اللمفاوية ، يزداد إنتاج هذا العامل بحدوث نقص في الأكسجين عن طريق عامل فعال هو عامل حث نقص الأكسجة ،الذي ينشط بدوره عامل النمو البطاني وأنزيم الكيناز وأنزيم P38 في الخلايا السرطانية [134]

يقوم EGFR الموجود بشكل كبير على الغشاء الخلوي لخلايا SCC بالتحكم في التحريض على تشكيل أوعية دموية جديدة ، كما يقوم أيضاً بالتحكم في كل من التكاثر الخلوي للورم ، وترقي الورم والنقائل وله أثر سيء على معدل البقيا . [125] و لا يقتصر دوره فقط في المراحل

المبكرة من التكون الورمي ، إنما أيضاً له دور واضح في الانتشار الورمي داخل الجسم من خلال تنبيه بروتينات سيتوبلاسمية كامنة تؤدي إلى نشاط انتساخي للجينات ، يؤثر على التكاثر الخلوي والهجرة ومعدل البقيا والتكون الورمي[135].

لوحظ ازدياد متواتر في درجة التعبيرعن EGFR في كل الطبقات النسيجية للبشرات المخاطية السرطانية في السرطانات المتقدمة ، بقي فرط التعبيرعن EGFR مرتفعاً في الآفات البدئية الخبيثة و الآفات المتطورة والغازية [109،113،130] ،مما يعزز دور EGFR كمبدىء و محرض و مطور للآفات السرطانية الفموية[109].

يؤثر EGFR في الفيزيولوجيا المرضية للسرطان ، فهو ينشط فعلاً مضاداً للموت الخلوي المبرمج في السرطان [136]، و يلعب دوراً تحفيزياً هاماً في إزفاء اقتراب مستضد SCC من الغشاء البلاسمي في الصفيحة الشحمية في المراحل المتقدمة ، يمكن للبوليمراز أكتين أن يحدد مكانه في الصحيفة الشحمية . ومن جهة أخرى يمارس EGF نظام ضبط سلبي هام على N كادهرين الذي يحصّر TGF beta1 (وهو وسيط هام للخلايا المتقرنة و لآلية عمل السرطان شائك الخلايا) فيضبط حركة الخلايا الفموية الطبيعية المتقرنة ، لذلك فإن فقد هذه السلاسل التنظيمية تسبب تحولاً خبيثاً في البشرة الفموية [137]

أما الدلالة الانذارية و نسبة البقيا على قيد الحياة و علاقتها بمستويات EGF فقد لوحظ وجود علاقة عكسية بين مستويات EGF ونسبة البقيا لدى المرضى ، كانت نسبة البقيا لمدة خمس سنوات 81% للمرضى سلبيي EGF أما المرضى ايجابيي EGF فكانت نسبة البقيا مدة خمس سنوات 25% [138]، لذلك فإن تثبيط EGFR سيحسن من معدلات البقاء على قيد الحياة ، خاصة إذا اشترك مع المعالجة الشعاعية [138-139]

10-3-3-4 EGFR وعلاج OSCC

المشكلة في OSCC أن 95% من الخلايا الورمية تكون في الطور G0 وهي مقاومة نسبياً للمعالجة الكيميائية ، وهذا ما يمنع حصول استجابة للعلاج ، فللتغلب على ذلك استعملت السيتوكينات لتشغيل الخلايا وتحويرها في الدورة الإنقسامية الخلوية إلى الأطوار الحساسة كيماوياً مثل الطور (M,S) ، وكذلك يصبح الدخول في الدورة الخلوية أكثر فعالية بعد المعالجة بـ EGF والسيرتونين ، لأنه ينبّه الخلايا السرطانية في الطور G0 [140]

بما أن EGFR يساهم في تطور السرطان ،استخدامت العوامل الحاصرة لـ EGFR التي تلعب دوراً فعالاً في تثبيط التكاثر الخلوي الورمي [141،142] ، وتحريض الموت الخلوي المبرمج في خلايا السرطان شائك الخلايا [130] . طورت مثبطات التيروزين كيناز لتحجب تفعيل المستقبلة لأن عملية الفسفرة هي الحادثة المفتاحية التي تقود إلى تفعيل طريق الإشارة [141] .

تمت المشاركة بين مثبطات مستقبل عامل النمو البشري وهي (أضداد وحيدة النسلية لمضادات EGFR C225 أو مثبط انتقائي لـ EGFR تيروزين كيناز AG 1478) مع الأدوية التقليدية المضادة للسرطان (سيسبلاتين) ، تبين أن EGFR ينظم الموت الخلوي المبرمج الموسط بالسيسبلاتين في خلايا OSCC بتعديل نسبة البروتينات ، فهو يخفض البروتينات المضادة للموت الخلوي المبرمج (CIAP-1) و (XIAP) ، ويزيد البروتينات التي تدعم الموت الخلوي المبرمج (Bak وBax) [143]

أما مشاركة مثبط EGFR PKI 166 (وهو مثبط نوعي لجزء التيروزين كيناز من EGFR) مع البورتيوزوميب Bortezomib فإنه يزيد من مستويات بروتين EGFR مما يجعله قادراً على إعادة الالتصاق الخلوي البيني ، وعلى الرغم من أن مستويات الكيناز اللاصق الموضعي لم تتغير (مثل بروتين كادهرين E) كما أنه يثبط هجرة الخلايا ويعزز معدل الموت الخلوي ، هذا ما يفسر جدوى المشاركة بين البورتيوزوميب ومثبط EGFR [144]، كذلك فإنّ التثبيط المزمن لـ EGFR بالسيتوكسي ماب cetuximab يحرض على تنظيم و ضبط عالي لـ OSCC مما يحسن الحالة السريرية و يفتح آفاقاً جديدة للعلاج بالسيتوكسي ماب [138]

درس دورمثبطات أخرى من مثبطات EGFr في SCC و هو أحد مشتقات الكينازولين المسمى أريسا ZD183 ، يثبط الاريسا بشكل انتقائي نشاط EGFr بتثبيط نمو السلسلة الخبيثة الخلوية YD-10B الموجودة بنسبة كبيرة في SCC ، وفيها طفرة من نوع Frameshift في المورثة P53 ، كما أنه يؤخر تقدم الدورة الخلوية ، ويوقف الخلايا في المرحلة G2 ، يترافق ذلك مع زيادة في مثبطات الكيناز المعتمدة على السيكلين CDK1 ، فالأريسا أن يكون مفيداً في تثبيط التكاثر، و الغزو السرطاني ، ومنع النقائل بطريقة مستقلة (غير معتمدة على المورثة) P53 بل معتمدة على الآلية UPAR والأنزيمات الحالة للبروتين ، لأن 100 نانومتر من الأريسا أدت إلى نقص حوالي 30-25% من نشاط الأنزيمات الحالة للبروتين MMP-2 و MMP-9 [144]

أما عندما تم استخدام تثبيطاً مزدوجاً لمستقبلات تيرورين كيناز EGFR/HER2 بواسطة مركبات BIBW 2669 ، BIBW 2992 على السلسلة الخلوية FaDU لـ SCC ،فقد أظهرت الدراسة [161] تأثيراً واضحا مضاداً للتكاثر الخلوي في الزجاج ، وعندما تمت المشاركة مع جرعة أشعة وحيدة (20) راد تلاها تطبيق يومي للمركبات السابقة لوحظ تثبيط واضح لنمو الورم [145]

يمثل EGFR استراتيجية حديثة للتغلب على مقاومة الورم التي تحدث في بعض الأحيان [146]

من جهة أخرى لجأت بعض الدراسات إلى استخدام تقنية التأشيب الجيني المقارن في SCC ، وقد أظهر ذلك وجود اضطرابات في التوازن الجيني بشكل عام ، خاصة تلك المتعلقة بمستقبل عامل النمو البشروي EGFR على الصبغي 7P12 ، يمكن أن يكون ذلك عاملاً إنذارياً ، كما تم إجراء تقييم آخر بالاعتماد على دراسة جزيئية تستخدم برنامج AUTODOCK على البنية البلورية لجزء التيروزين كيناز من EGFR ، وتعتبر هذه النتائج خطوة في مستقبل الخطا التي تهدف إلى إيجاد معالجة ورمية خاصة لكل مريض على حدا [147] .

تم التحري عن وجود علاقة بين درجة التعبير عن EGFR وتمايز السرطان عند المرضى المصابين ب OSCC ، تم اللجوء إلى الطرق المناعية ، تبين أن EGFR كان موجوداً بشكل كبير [123،142،148، 149،150]، وكان التفاعل إيجابياً في كل من الغشاء الخلوي وسيتوبلاسما خلايا أغلب السرطانات شائكة الخلايا الفموية ، كان وجود EGFr مفرطاً في الأورام سيئة التمايز التي تحوي نسبة عالية من علائم سوء التصنع ، مع نقص في الأداء الوظيفي للخلايا البشرية على تصنيع القرنين . [123]

كانت مستويات EGF عالية في اللعاب لدى مرضى OSCC ، و يعتبر التدخين و الكحول من الأسباب التي تزيد مستوياته [135]، وهو يحرض على التكاثر الخلوي ، ويعتبر منبهاً كامناً للغزو و الاستعمار في سرطانات الرأس و العنق [150] ، وذلك من خلال تحريض MMP-9 و كادهرينE [148].

وبالمقابل يوجد دراسة أجراها Diniz-Freitas [151]اعتمدت التقييم الدوائي والتشخيصي لتحديد درجة التعبيرعن مستقبل EGF في OSCC ، استخدمت الطرق الكيمائية المناعية النسيجية بنظام Pharma DX Kit لتحديد دور EGER [151] فلم يظهر لدرجة التعبيرعن EGER أية ارتباطات ذات قيمة إحصائية مع أي من المتغيرات السريرية النسيجية والبيولوجية أو حتى الإنذارية ، أي أن EGFR هو مشعر غير مفيد في إنذار OSCC ، ويقترح إجراء المزيد من التحريات الإضافية عن المستقبل [151]

الباب الثاني : المواد و الطرق
Materials and Methods

١ -العينات المستخدمة في البحث

شمل البحث على 35عينة لمرضى مشخصين بالسرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفموية ، راجعوا مشفى جراحة الفم و الفكين في كلية طب الأسنان /جامعة دمشق و مشفى المواساة بدمشق وتمّ إجراء الفحص النسيجي لعيناتهم في قسم النسج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان بجامعة دمشق

شملت هذه العينات الفئات العمرية كلها ، و أظهرت درجات خبث متباينة داخل فموية دون الوصول إلى حدود البلعوم الفموي ، وتراوحت درجة الخبث النسيجي بين درجة 1 ، درجة 2 ، درجة 3 ، وصنفنا درجة إيجابية العينات لـ EGF إلى ثلاث درجات

- إيجابية منخفضة +
- إيجابية مرتفعة ++
- إيجابية مرتفعة +++

٢ -شروط أخذ الخزعة

لقد استبعدنا عينات المرضى الذين تلقوا علاجاً شعاعياً أو كيميائياً قبل استئصال الأفة وتم تصميم استمارة خاصة لتدوين كافة المعطيات السريرية و النسيجية للمرضى من عمر و جنس المريض و نوع المخاطية المصابة و مكان الآفة و درجة الخبث النسيجي .....الخ لتسهيل الدراسة فيما بعد.

٣ -المعالجة الإحصائية:

بعد جمع بيانات الدراسة، تمّ إدخال هذه البيانات للحاسب الآلي، وذلك من خلال إعطائها أرقاماً معينة لتحويل الإجابات اللفظية إلى رقمية. وقد استخدمنا في إجراء الدراسة الإحصائية ما يلي :

- الدراسة الوصفية لعينة الدراسة
- الجداول التقاطعية
- اختبار كاندال وسبيرمان واختبار كاي التربيعي

تمّت دراسة طبيعة العلاقات بين المتغيرات المستقلة والمتغيرات التابعة من خلال استخدام اختبار كاي التربيعي الذي يفيد في معرفة ما إذا كان هناك علاقة بين شيئين أو متغيرين. يجرى هذا الاختبار عن طريقة مقارنة قيمة محددة مسبقا تعرف بمستوى المعنوية (ألفا) المسماة p-Value وأحياناً ترمز [مستوى المعنوية (ألفا) بالرمز sig] ، وتحسب من البيانات المتوفرة ، و سيتضح عن طريق المقارنة بين القيمتين فيما إذا كانت هنالك علاقة بين الاثنين أم لا عند القيام باختبار كاي تربيع للاستقلالية ، وقد حددنا قيمة sig=0.05 وسنقوم بمقارنتها بقيمة تسمى p-value أو sig و التي يمكن حسابها يدويا أو باستخدام أحد البرامج الإحصائية

الشهيرة و ذلك من البيانات التي جمعناها ، ويتم اتباع المعيار التالي في معرفة العلاقات (إذا كانت قيمة sig الحسابية أصغر من مستوى الدلالة القياسية sig=0.05 فإننا نرفض فرضية العدم أي عدم وجود علاقة بين المتغيرين و نقبل الفرضية البديلة بوجود تأثير وعلاقة بين المتغيرين ، أما إذا كانت قيمة sig الحسابية أكبر من مستوى الدلالة القياسي sig=0.05 فإننا نقبل فرضية العدم بعدم وجود تأثير وعلاقة بين المتغيرين)

أما قياس قوة الارتباط فيتم من خلال اختبار Kendall's tau_b واختبار Spearman's rho (كاندال وسبيرمان) لإيجاد العلاقة وقوة الارتباط بين المتغيرات غير الكمية حيث يتم معرفة معامل الإرتباط $-1 < R < +1$ ومن خلاله يمكن معرفة قوة الارتباط ضعيف أو متوسط أو جيد، ومقارنة القيمة مع معنوية الدلالة الحسابية للدلالة على معنوية ودرجة الارتباط

لقد درسنا العلاقة بين درجة التعبير عن EGF وكل من

- علائم الخبث الخلوي
- كرات التقرن
- عدد الخلايا المشمولة بالخبث
- درجة الخبث النسيجية
- مكان التلون
- الالتهاب
- الفئة العمرية للمريض
- مكان الاصابة بـ OSCC

4- المواد و الأجهزة المستخدمة في البحث

4-1 المواد

_ الفورمول 15% لتثبيت العينة و حفظها بعد الاستئصال الجراحي

_ الكزيلول متدرج التركيز حتى الكزيلول المطلق

_ الكحول متدرج التركيز حتى الكحول المطلق

_ أوعية زجاجية خاصة محكمة الإغلاق

_ الماء المقطر و الماء العادي

_ البارافين

_ لامات زجاجية عادية

_ لامات زجاجية خاصة لتطبيق الملونات المناعية مطلية بمادة لاصقة

_ سواتر زجاجية لستر العينات

_ ملونا الهيماتوكسلين و الايوزين

_ بلسم كندا

_ شاش معقم، كمامات ، قفازات ، ورق نشاف

_شبة الكروم ، سائل تريس ، الجيلاتين

_ الكيت المناعي العام LASB لشركة DAKO

4-2 الأجهزة

_المبشرة النسيجية (الميكروتوم)

_ جهاز تسخين لفرش المحضرات

_ جهاز تسخين حراري جاف

_ محم بدرجة حرارة 50 لدمج البرافين

_ مجهر ضوئي للدراسة

_ مجهر ضوئي خاص للدراسة لتصوير العينات مزود بكاميرا دقيقة

_ براد خاص للقوالب البرافينية

٥ -طرق الداراسة

5-1 طريقة الدراسة النسيجية

1-مرحلة التثبيت : توضع العينة مباشرة بعد الاستئصال الجراحي بالفورمول الممدد 10% لمدة 24 ساعة من أجل تثبيت العينة و منع تحللها الذاتي و لتسهيل عملية التلوين

2- مرحلة الإدماج : الهدف من هذه المرحلة الحصول على العينة ضمن قالب شمعي برافيني صلب يمكن قطعه وتتم هذه المرحلة بعدة خطوات

* مرحلة التجفيف : باستخدام 3 حمامات من الكحول المتزايد التركيز، نبدأ بكحول 70% لمدة ساعة ثم كحول 85% لمدة ساعة ثم كحول مطلق لمدة ساعة و ذلك لإزالة الماء من العينة

* مرحلة التشفيف: باستخدام 3 حمامات من الكزيلول و لمدة ساعة في كل حمام باعتبار أن الكزيلول مادة وسيطة تنحل في الكحول و البرافين وبهذه المرحلة يتم التخلص من الكحول

* مرحلة دمج البرافين : توضع العينة في حوضين من البرافين المنصهر بدرجة حرارة 50 و مدة ساعتين في كل منها ثم توضع في قالب معدني خاص و يصب البرافين فوقها و نوجه العينة بالاتجاه المناسب للقطع بواسطة ملقط خاص و ذلك قبل أن يتصلب البرافين

3- مرحلة البشر (القطع) : نثبت قالب البرافين على الحامل المعدني للمبشرة النسيجية microtome و بحركة آلية نحصل على مقاطع رقيقة بحدود 5 ميكرون

مرحلة وضع الشرائح على الصفائح الزجاجية : يوضع شريط من العينة المصبوبة بالبرافين و المقطع بالمبشرة النسيجية على جهاز يحتوي ماء بدرجة حرارة 30 ، يبسط هذا الشريط و تفرد التجعدات ثم يقسم الشريط إلى عدة أقسام كل منها يحتوي 3 مقاطع من العينة ، ثم تفرش هذه العينات على صفائح زجاجية ضمن الماء

نزع البرافين : توضع المحضرات في محم بدرجة حرارة 64 ثم تمرر على 3 حمامات من الكزيلول ثم إلى 3 حمامات من الكحول لإزالة الكزيلول

تلوين المحضرات بملوني الهيماتوكسلين و الايوزين

_ نغسل الشرائح بالماء الجاري لمدة 5 دقائق لطرد الكحول

_ توضع المحضرات بمحلول الهيماتوكسلين 2 دقيقة

_ تغسل المحضرات بالماء جيداً

_ تنقل المحضرات إلى ملون الايوزين 1 دقيقة

_ تغسل المحضرات بالماء جيداً

_ توضع المحضرات في حمامين من الكحول لإزالة الماء

_ توضع المحضرات في 3 حمامات من الكزيلول 10 دقائق

_ نضيف بلسم كندا على العينة ثم نسترها بواسطة ساترة زجاجية

_ هذا الملون يلون هيولى الخلايا و الألياف الغرائية باللون الزهري الايوزيني ، بينما يلون نوى الخلايا بالبنفسجي الهيماتوكسليني

5-2 طريقة التلوين بالملون الكيميائي النسيجي المناعي

نحضر اللاصق الذي ستغمر فيه الصفائح الزجاجية المستخدمة للتلوين

المناعي بأن نسخن 500 مل من الماء المقطر بدرجة حرارة 50 ثم نضيف 3غ جيلاتين و 3 غ شبّة الكروم و نحرك لمدة ساعة و نصف لنحصل على سائل أخضر مزرق نغمر فيه الصفائح الزجاجية أربع مرات و لمدة دقيقة واحدة ثم بعد أن تجف نفرش عليها أنسجة العينة .

ننقل المحضرات إلى 3 حمامات من الكزيلول لمدة ساعة في كل منها ثم إلى 3حمامات من الكحول لإزالة الكزيلول و لمدة 5 دقائق في كل منها

نغسل بالماء المقطرجيداً ، نجفف بورق النشاف

نبدأ بعدها باستخدام الكيت المناعي العام الخاص بالتلوين المناعي لشركة داكو LASB حسب تعليمات الشركة المصنعة

غمر العينات بالماء الأكسجيني 3%مدة 5 دقائق ثم نغسل بسائل تريس

مع الغمر لمدة 5 دقائق فيه

التجفيف بورق النشاف ثم الغمر بمستضد المورثة EGFR مدة 15 دقيقة في حاضنة بدرجة حرارة 25 (درجة حرارة الغرفة) بعدها نغسل بسائل تريس مع الغمر مدة 5 دقائق
نغمر العينات بالرابط link 10 دقائق ثم نغسل بسائل تريس مع الغمر مدة 5 دقائق
غمر العينات بالستربتافيدين straptavidin 10 دقائق و غسل بسائل تريس مع الغمر 5 دقائق فيه
مزج 2 مل من substrate buffer مع نقطة واحدة من AEC-chromogen و هذه الكمية تكفي من 8–10 مقاطع نسيجية ، تغمر العينات فيه مدة 10 دقائق و نتخلص من السائل بعد مرور ساعة واحدة بسبب فقدانه الصلاحية بعد هذه الفترة
نغسل بالماء المقطردقيقة واحدة و نجفف بورق النشاف
نلون المقاطع النسيجية بهيماتوكسلين ماير مدة نصف دقيقة لتلوين نوى خلايا النسيج ثم نغسل بالماء المقطر دقيقة واحدة و بعدها غسل بالماء الجاري
ستر المقاطع النسيجية بوضع نقطة من مزيج (الغليسرين و الجيلاتين)المحمّى بالمحم حتى درجة 40 ثم وضع الساترة الزجاجية فوقها
13– الآن تصبح جاهزة للفحص بالمجهر الضوئي و يفضل أن تحدد إيجابية الملون في اليوم الأول من التلوين لأن اللون يبهت و يزول تدريجياً مع الوقت

٦ –لمحة عن الملون المناعي (ضد المورثة EGFR)

هو عبارة عن anti body للمورثة EGFR يلون الجزء الخارجي فقط من هذه المورثة و لا يلون باقي أفراد عائلة HER و يسوق في عبوة تكفي لتلوين 50 عينة بحث مأخوذة من الانسان.
يكون البروتين EGFR موجوداً في كل الخلايا الطبيعية و الخلايا السرطانية و هو يلون الغشاء الخلوي و الهيولى الخلوية لكل خلايا OSCC أما في الخلايا البشرية الطبيعية فهو يلون الخلايا القاعدية فقط دون أن يتعدى ذلك إلى الطبقات الشائكة

٧ –استمارة الفحص السريري و النسيجي

استمارة الفحص السريري و النسيجي

استمارة بحث لنيل درجة الماجستر في طب الأسنان إعداد د. رولا عزالدين

رقم العينة

اسم المريض

عمر المريض

جنس المريض ذكر أنثى

نوع المخاطية المصابة مخاطية متقرنة

مخاطية مبطنة

مخاطية متخصصة

مكان الإصابة قبة الحنك

اللسان

قاع الفم

الشفة السفلية

اللثة

باطن الخد

الميزاب الدهليزي

الرشاحة الخلوية الالتهابية من لا يوجد

الخلايا اللمفية والمصورية بؤرية

في النسيج الضام شاملة

كرات التقرن المعكوس موجودة

غيرموجودة

علائم الكشم الخلوي فرط اصطباغ النوى

وضوح النويات

اختلال النسبة بين النواة و الهيولى

التقرن الفردي

تعدد أشكال الخلايا

الانقسامات الشاذة

درجة الخبث النسيجية تشمل 1\4 خلايا العينة 1\2 خلايا العينة

3\4 خلايا العينة كامل خلايا العينة

الكاشف الكيميائي المناعي – +

ملون EGFR ++ +++

الشكل رقم(4) كيت التلوين المناعي المفرد من شركة Dako - الدانمارك

Dako REAL™ EnVisio
n™ Detection System, Peroxidase/DAB+,
Rabbit/Mouse ,Code K5007 ,Dako

الشكل رقم (5) محلول استرجاع المستضد

Antigen Retrieval Buffer (100×Citrate Buffer, pH 6), 125ml, Code (ab93678), Abcam

Antigen Retrieval Buffer (100×EDTA Buffer, pH 8), 125ml, Code (ab93680), Abcam

الشكل رقم (6) المبشرة النسيجية Microtome (LEICA):

الشكل رقم (7) محم مائي لفرش المقاطع النسيجية (LEICA):

الشكل رقم (8) فرن التجفيف (Nicht drehen) :

الشكل رقم (9) المجهر الضوئي

الشكل رقم (10) قلم التحديد من شركة (Dako)

االشكل رقم (11) الممص pipet

الباب الثالث : النتائج والدراسة الإحصائية
Resulsts and statistical study

١ خصائص عينة الدراسة .

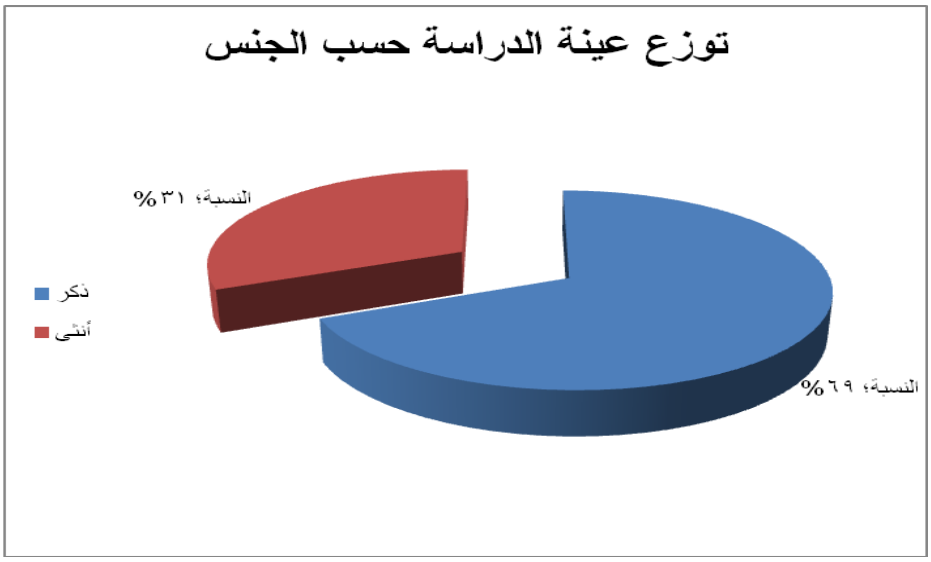
توزعت العينة حسب الجنس :

جدول رقم (4) توزع عينة الدراسة حسب الجنس

	العدد	النسبة
ذكر	24	68.6
أنثى	11	31.4
Total	35	100.0

تظهر بيانات الجدول رقم (4) تصنيفا للمرضى حسب الجنس ، ومنها نلاحظ أن النسبة الأكبر من المرضى لفئة جنس الذكور بنسبة (68.6%)، بينما كانت نسبة الإناث في عينة الدراسة 31.4 % . والمخطط البياني التالي يوضح ذلك

شكل رقم (12) توزع بيانات العينة حسب الجنس



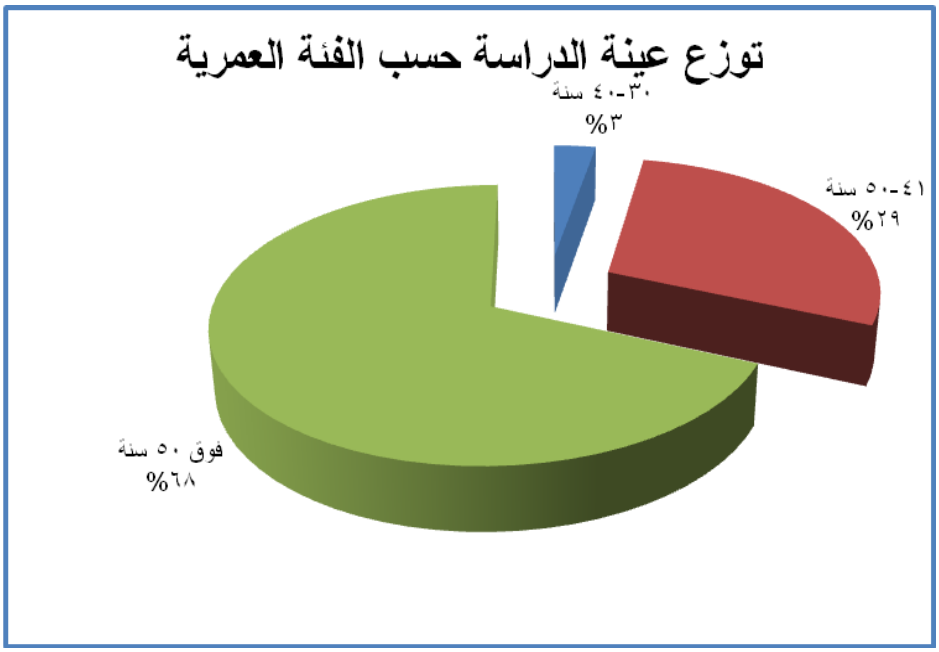
توزع العينة حسب الفئة العمرية :

جدول رقم (5) توزع عينة الدراسة حسب الفئة العمرية

	العدد	النسبة
30-40سنة	1	2.9
41-50سنة	10	28.6
فوق 50 سنة	24	68.6
Total	35	100.0

تظهر بيانات الجدول رقم (5) تصنيفا للمرضى المصابين ب OSCC الذين شملتهم دراستنا حسب الفئة العمرية، ومنها نلاحظ أن النسبة الأكبر منهم من الفئة العمرية 50 سنة فأكثر بنسبة (68.6%)، بينما كانت النسبة الأصغر من هؤلاء المرضى بالفئة العمرية 30-40 سنة (2.9%). وهذا واضح في المخطط البياني التالي

شكل رقم (13) توزع بيانات العينة حسب الفئة العمرية



٢ - دراسة العلاقات والارتباط بين متغيرات الدراسة

دراسة درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF مع عدد من المتغيرات النسيجية :

2-1 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF مع علائم الخبث الخلوي

من خلال الجدول رقم (6) نجد أن

نلاحظ أنّه عندما تكون درجة التعبير عن عامل النمو البشروي سلبية (-) يكون وضوح النويات يشمل 18 % من الخلايا ، بينما عندما تكون (++) يكون وضوح النويات بنسبة 23% ، وهذا الأخير يصل إلى 50 % عندما تكون درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (+++)

جدول رقم (6) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF وعلائم الخبث الخلوي

درجة التعبير عن EGF		علائم الخبث الخلوي			
		وضوح النويات	تعدد الأشكال	اضطراب نسبة الهيولي / النواة	انقسامات شاذة
-	العدد	4	2	4	3
	النسبة المئوية	18%	11%	15%	19%
+	العدد	2	3	3	1
	النسبة المئوية	9%	16%	11%	6%
++	العدد	5	5	9	5
	النسبة المئوية	23%	26%	33%	24%
+++	العدد	11	9	11	12
	النسبة المئوية	50%	47%	41%	75%

تعدد الأشكال نجد أنها تتواجد في 11 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF (−) ثم 16 % عندما تكون (+) و 26 % عندما تكون (++) وتصل إلى 47 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF (+++)

اختلال نسبة الحجم بين النواة والهيولىّ Ratio : نجد أنّه عندما تكون درجة التعبير عن EGF (−) تكون Ratio 15 % لتزداد إلى 33% عندما تكون درجة التعبير عن EGF (++) وتصل إلى 41 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF (+++)

الانقسامات الشاذة : نجد أنّه عندما تكون درجة التعبير عن EGF (−) تكون الانقسامات الشاذة موجودة في 19 % من العينات ويزداد إلى 75 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF(+++).

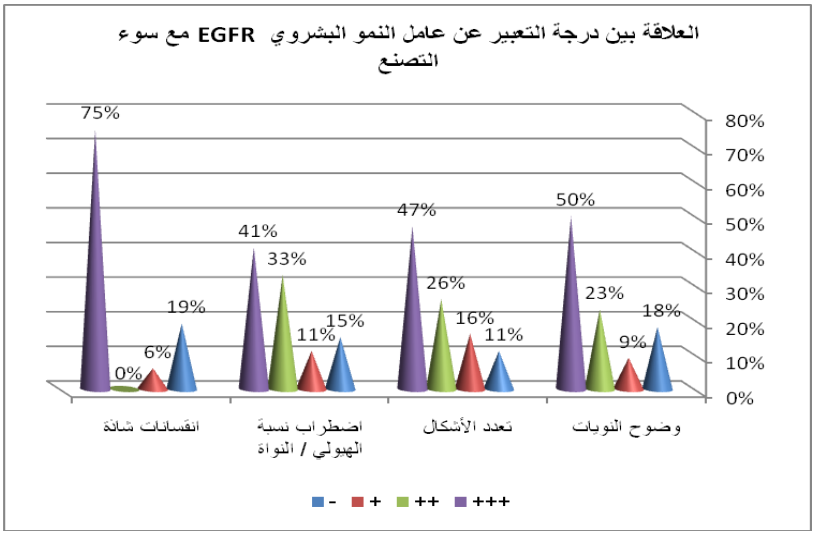
ولإيجاد علاقة الارتباط بين درجة التعبير عن EGF مع علائم الخبث الخلوي تمت دراسة اختبار كاندال حيث حصلنا على علاقة الارتباط الموضحة في الجدول رقم (7)

جدول رقم (7) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين

			علائم الخبث الخلوي
Kendall's tau_b	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.490
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.048
		N	28

من خلال الجدول رقم (7) نجد أن عامل الارتباط R=49 % وهو ارتباط وسط ويدل على أن يوجد علاقة ارتباط بين علائم الخبث الخلوي و درجة التعبير عن EGF ايجابي وذو دلالة معنوية حيث معنوية الدلالة الحسابية sig=0.048 وهي أصغر من قيمة الدلالة المعيارية sig=0.05 إذا توجد علاقة ارتباط ذات دلالة

شكل ر قم (14) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF وعلائم الخبث الخلوي



2-2 دراسة علاقة درجة التعبير عن EGF مع وجود كرات التقرن

جدول رقم (8) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن EGF ووجود أو عدم وجود كرات التقرن المعكوس

		درجة التعبير عن EGF				Total
		-	+	++	+++	
وجود كرات التقرن المعكوس	عدد الحالات	4	7	6	5	22
	نسبة وجود كرات التقرن المعكوس	18%	32%	27%	23%	100 %
غياب كرات التقرن المعكوس	عدد الحالات	1	1	4	7	13
	نسبة غياب كرات التقرن المعكوس	8%	8%	31%	54%	100 %
المجموع	عدد الحالات	5	8	10	12	35
	النسبة	14%	23%	29%	34%	100 %

من خلال الجدول السابق نجد ما يلي :

في حالة وجود كرات التقرن المعكوس : 32 % من العينات تكون فيها درجة التعبير عن EGF (+) ، و تتناقص النسبة لتصل إلى 27 % عندما تكون درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (++) و تصل إلى 23% عندما تكون درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (+++)

في حال غياب كرات التقرن المعكوس : تكون درجة التعبير عن EGF (−) و (+) تشمل 8 % من العينات و تزداد لتصل إلى 31 % و 54%على التوالي في كل من درجة التعبير عن EGF (++)و (+++)

بدراسة علاقة الارتباط بين هذين العاملين نجد ما يلي

هناك علاقة ارتباط عكسية بين درجة التعبير عن EGF و وجود كرات التقرن المعكوس

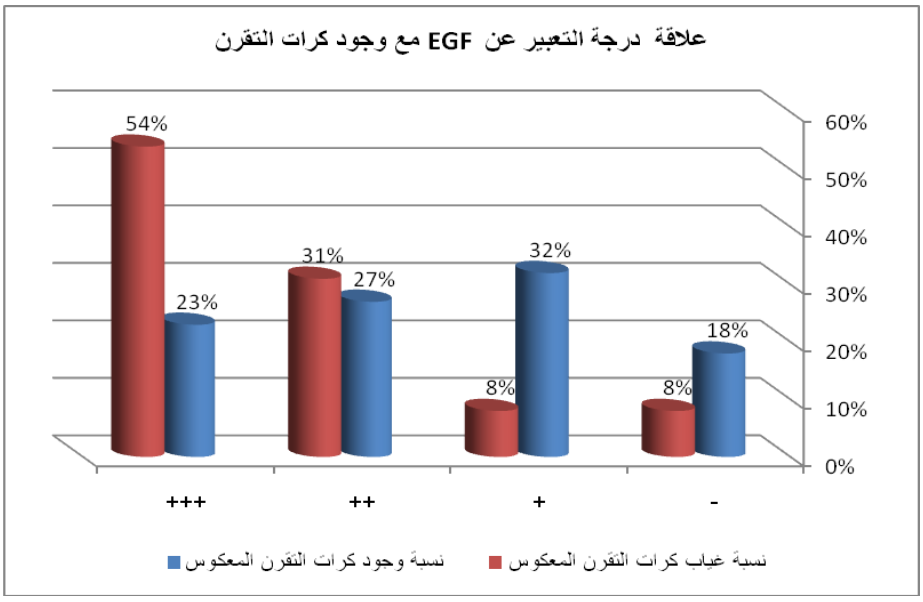
ولدراسة درجة الارتباط بين هذين المتغيرين تم باستخدام علاقة الارتباط سبيرمان وكاندال وذلك حسب الجدول رقم (9)

جدول رقم (9) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين

			كرات التقرن المعكوس
Kendall's tau_b	درجة التعبير عنEGF	قيمة معامل الارتباط	-0.330
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.036
		N	35
Spearman's rho	درجة التعبير عنEGF	قيمة معامل الارتباط	-0.36
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.034
		N	35

من خلال الجدول (9) نجد أنه توجد علاقة ارتباط ذات اتجاه عكسي بين درجة التعبير عن EGF ووجود كرات التقرن المعكوس وهذا الارتباط يصل إلى 33 % بالاتجاه العكسي وهو ذو دلالة معنوية حيث قيمة معنوية الدلالة الحسابية sig=0.036 أصغر من مستوى الدلالة القياسية sig=0.05 إذاً ارتباط ذو دلالة معنوية بين المتغيرين

شكل ر قم (15) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF ووجود كرات التقرن



2-3 دراسة علاقة درجة التعبير عن EGF مع عدد الخلايا المشمولة بالخبث

جدول رقم (10) يبين توزع عينة الدراسة حسب درجة التعبير عن EGF وعدد الخلايا المشمولة بالخبث

			درجة التعبير عن EGF			Total
			-	+	++	+++	
عدد الخلايا المشمولة بالخبث	1/4 خلايا العينة	العدد	1	2	1	0	4
		النسبة	25%	50%	25%	0%	100%
	1/2إلى 3/4 خلايا العينة	العدد	1	4	3	3	11
		النسبة	%9	%37	% 27	% 27	100%
	3/4إلى كامل خلايا العينة	العدد	3	2	6	9	20
		النسبة	15%	10%	30%	45%	100%
Total		العدد	5	8	10	12	35
		النسبة	14%	23%	29%	34%	100%

من خلال الجدول رقم (10) نجد أنه :

عندما تكون ¼ الخلايا مشمولة بالخبث تكون درجة التعبير السلبية (-) وحتى الإيجابية المرتفعة (++) عن EGF تشمل فقط 25% من العينات، بينما 50 % من العينات تكون إيجابية منخفضة EGF (+) .

عندما تبدي 1/2إلى 3/4 الخلايا علائم الخبث تكون درجة التعبير عن EGF(+) تشمل 37% و تنخفض نسبة الإيجابية لتصل إلى 27% فيEGF (++) و EGF(+++)

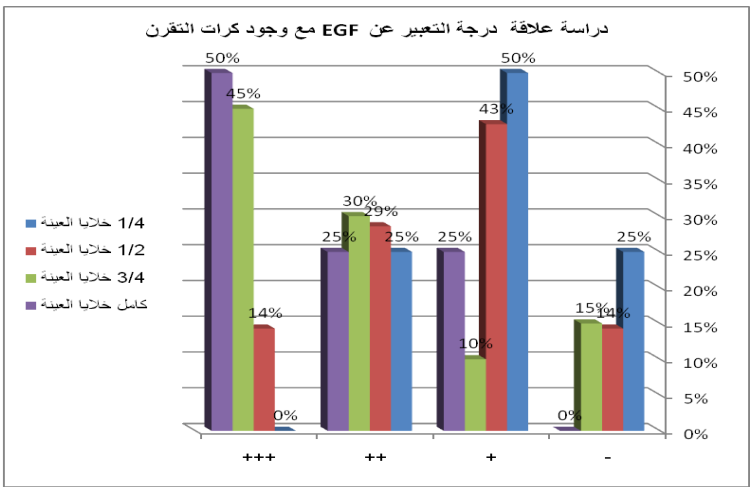
عندما تبدي من ¾ إلى كامل خلايا العينة علائم الخبث تكون درجة التعبير عن EGF(+) تشمل 10% لتزداد إلى 30% فيEGF (++) و45% في EGF(+++)

ولدراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF مع عدد الخلايا المشمولة بالخبث تم إجراء اختبار Kendall's tau_b واختبار Spearman's rho وحصلنا على الجدول رقم (11)

جدول رقم (11) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين

			عدد الخلايا المشمولة بالخبث
Kendall's tau_b	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.454
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.028
		N	35
Spearman's rho	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.456
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.026
		N	35

من خلال الجدول السابق نجد أن معامل الارتباط بين المتغيرين هو R=32.4% وهو ارتباط مقبول لكن ذو دلالة احصائية حيث قيمة معنوية الدلالة الحسابية sig=0.02



شكل ر قم (16) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF و عدد الخلايا لمشمولة بالخبث

وهي أقل من القياسية sig=0.05 إذا يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF و عدد الخلايا المشمولة بالخبث

2-4 دراسة علاقة درجة التعبير عن EGF مع درجة الخبث النسيجية :

جدول رقم (12) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن EGF مع درجة الخبث النسيجية:

درجة الورم		درجة التعبير عن EGF				Total
		-	+	++	+++	
درجة أولى	عدد الحالات	4	6	5	7	22
	النسبة المئوية	18%	27%	23%	32%	100%
درجة ثانية	عدد الحالات	1	1	4	3	9
	النسبة المئوية	11%	11%	44%	33%	100%
درجة ثالثة	عدد الحالات	0	1	1	2	4
	النسبة المئوية	0%	25%	25%	50%	100%
المجموع	عدد الحالات	5	8	10	12	35
	النسبة المئوية	14%	23%	29%	34%	100%

عندما يكون الورم من الدرجة الأولى تكون درجة التعبير عن EGF (−) تشمل 18 % من الخلايا ، وعندما تكون درجة التعبير عن EGF (+) يرتفع عدد الخلايا المشمولة بالإيجابية إلى 27 % ليصبح عددها 32 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF (+++)

عندما يكون الورم من الدرجة الثانية : تكون درجة التعبير عن EGF (+) تشمل 11 % من الخلايا ، أما عندما ترتفع درجة الإيجابية إلى (++) يرتفع عدد الخلايا المشمولة بالإيجابية إلى 44 %، ليصبح عددها 33 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF (+++)

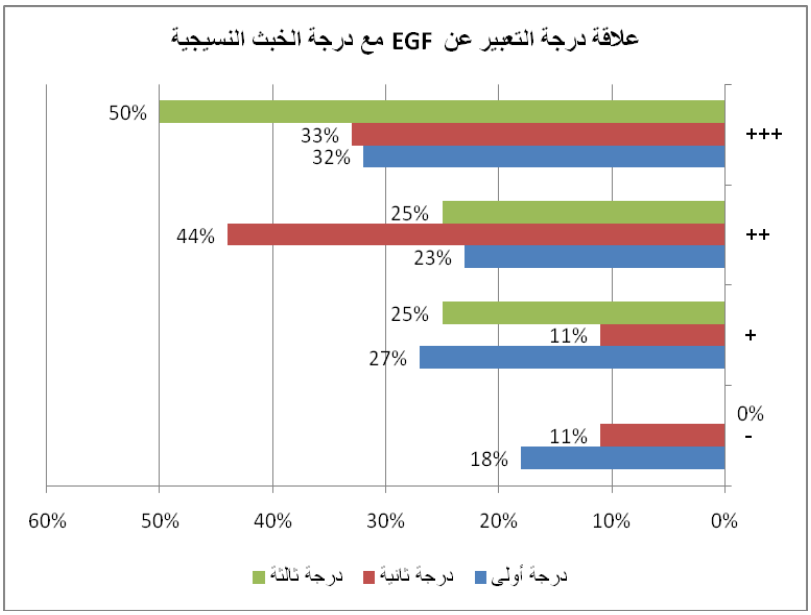
عندما يكون الورم من الدرجة الثالثة تزداد النسبة المئوية لدرجة التعبير عن EGF (+) و(++) من 25% لتصل إلى 50 % عندما تكون درجة التعبير عن EGF (+++) .

لدراسة العلاقة بين متغير درجة درجة التعبير عن EGF مع درجة الخبث النسيجية تم اجراء اختبار Kendall's tau_b واختبار Spearman's rho وحصلنا على الجدول التالي

جدول رقم (13) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين

			درجة الخبث النسيجية
Kendall's tau_b	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.550
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.048
		N	35
Spearman's rho	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.550
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.048
		N	35

من خلال الجدول السابق نجد أن معامل الارتباط بين المتغيرين هو R=55% وهو ارتباط متوسط ذو دلالة احصائية حيث قيمة معنوية الدلالة الحسابية sig=0.04 وهي أقل من القياسية sig=0.05 إذا يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF و درجة خبث الورم



شكل ر قم (17) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشرويEGF و درجة الخبث

5-2 دراسة علاقة درجة التعبير عن EGF مع مكان التلون

جدول رقم (14) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن EGF ومكان التلون

		درجة التعبير عن EGF				Total
		-	+	++	+++	
تلوين سلبي	عدد الحالات	5	0	0	0	5
	النسبة	100%	0%	0%	0%	100%
محيطي فقط	عدد الحالات	0	6	9	11	26
	النسبة	0%	23%	35%	42%	100%
محيطي و مركزي	عدد الحالات	0	2	1	1	4
	النسبة	0%	50%	25%	25%	100%
المجموع	عدد الحالات	5	8	10	12	35
	النسبة	14%	23%	29%	34%	100%

من خلال الجدول رقم (14) السابق نجد أن

- عندما يكون تلون الخلايا السرطانية محيطي تزداد إيجابية درجة التعبير عن EGF من 23% في EGF (+) إلى 35% في EGF (++) لتصل إلى أعلى نسبة 42% في EGF (+++)
- أما عندما يكون تلون الخلايا السرطانية محيطي و مركزي تكون إيجابية درجة التعبير عن EGF 50% في EGF (+) و 25% في EGF (++) و EGF (+++)

و لإيجاد العلاقة بين درجة التعبير عن EGF و مكان التلون لجأنا إلى اختبار كاي التربيعي حيث حصلنا على الجدول التالي

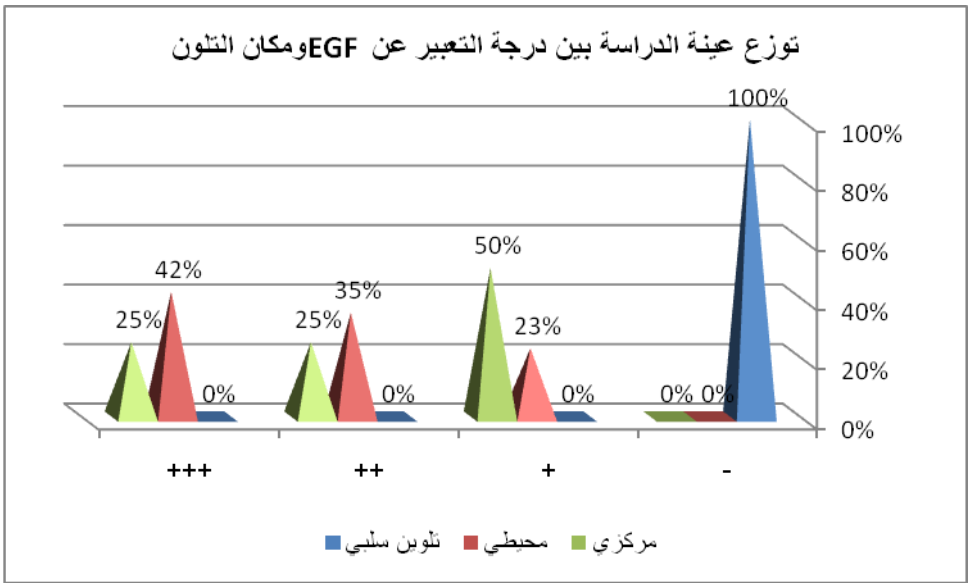
جدول رقم (15) يبين اختبار كاي التربيعي

	Value	Df	معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)
معامل الارتباط Pearson Chi-Square	36.514	6	0.000

من خلال الجدول السابق نجد أن معامل كاي هو 36.51 ذو دلالة إحصائية حيث sig=0.000 أصغر من مستوى الدلالة القياسي 0.05 ولقياس قيمة معامل الارتباط بين متغير درجة التعبير عن EGF و مكان التلون تم إجراء اختبار Kendall's tau_b واختبار Spearman's rho وحصلنا على الجدول التالي :

جدول رقم (16) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين			مكان التلون
Kendall's tau_b	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.457
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.010
		N	35
Spearman's rho	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.464
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.007
		N	35

من خلال الجدول السابق نجد أن معامل الارتباط بين المتغيرين هو R=46.7% وهو ارتباط متوسط ذو دلالة إحصائية حيث قيمة معنوية الدلالة الحسابية sig=0.01 وهي أقل من القياسية sig=0.05 إذا يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF و مكان التلون .



شكل ر قم (18) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF و مكان التلون

6-2 دراسة علاقة درجة التعبير عن EGF مع الالتهاب

جدول رقم (17) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن EGF و الالتهاب

		درجة التعبير عن EGF				Total
		-	+	++	+++	
لايوجد التهاب	عدد الحالات	2	6	1	2	11
	النسبة ضمن الرشاحة الخلوية الالتهابية	18%	55%	9%	18%	100%
التهاب بؤري	عدد الحالات	2	2	4	4	12
	النسبة ضمن الرشاحة الخلوية الالتهابية	17%	17%	33%	33%	100%
التهاب شامل	عدد الحالات	1	0	5	6	12
	النسبة ضمن الرشاحة الخلوية الالتهابية	8%	0%	42%	50%	100%

المجموع	عدد الحالات	5	8	10	12	35
	النسبة ضمن الرشاحة الخلوية الالتهابية	14%	23%	29%	34%	100%

من خلال الجدول السابق نجد أن :

83% من العينات التي كانت فيها درجة التعبير عن EGF إيجابية (+) (++) أو (+++) كانت فيها الخلايا الالتهابية موجودة بشكل بؤري في اللحمة الضامة للورم

92% من العينات التي كانت فيها درجة التعبير عن EGF (++) أو (+++) كانت فيها الخلايا الالتهابية منتشره في كامل اللحمة الضامة للورم .

وتم إيجاد علاقة بين درجة التعبير عن EGF والالتهاب عن طريق اختبار كاي التربيعي حيث حصلنا على الجدول التالي رقم (18):

جدول رقم (18) يبين اختبار كاي التربيعي

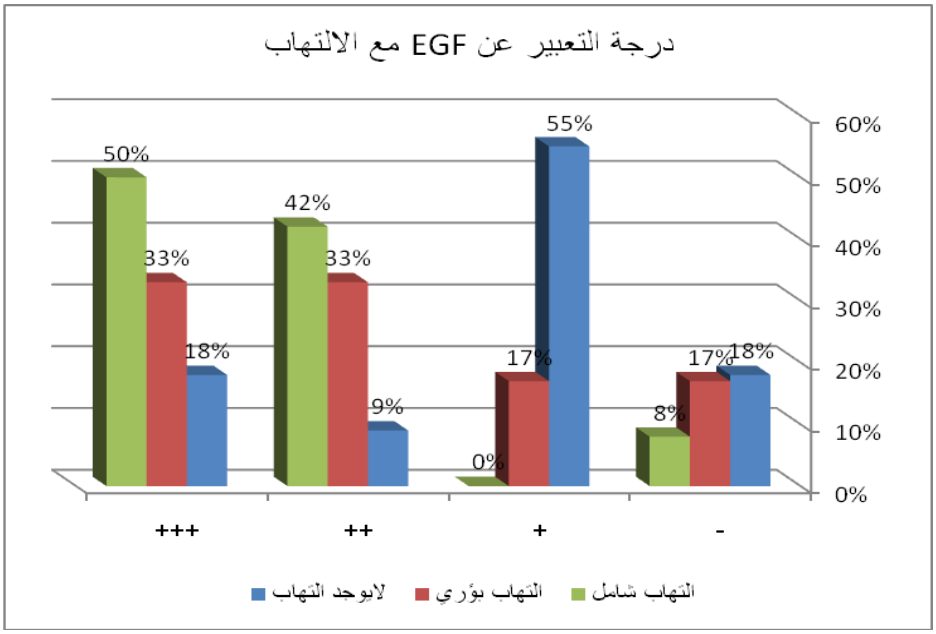
	Value	Df	معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)
Pearson Chi-Square	12.215	6	0.047

من خلال الجدول السابق نجد أن معامل كاي هو 12.21 ذو دلالة احصائية حيث sig=0.047 أصغر من مستوى الدلالة القياسي 0.05 ولقياس قيمة معامل الارتباط بين درجة التعبير عن EGF و الالتهاب تم اجراء اختبار Kendall's tau_b واختبار Spearman's rho وحصلنا على الجدول التالي رقم (19)

جدول رقم (19) يبين علاقة الارتباط بين المتغيرين

			الرشاحة الخلوية الالتهابية
Kendall's tau_b	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.459
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.008
		N	35
Spearman's rho	درجة التعبير عن EGF	قيمة معامل الارتباط	0.464
		معنوية الدلالة الحسابية Sig. (2-tailed)	0.007
		N	35

من خلال الجدول السابق نجد أن معامل الارتباط بين المتغيرين هو R=46.9% وهو ارتباط متوسط ذو دلالة احصائية حيث قيمة معنوية الدلالة الحسابية sig=0.008 وهي أقل من القياسية sig=0.05 إذا يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF و الالتهاب .



شكل رقم (19)

يبين العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي والالتهاب

2-7 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF والفئة العمرية للمريض

جدول رقم (20) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عن EGF والفئة العمرية

		عمر المريض		
		30-40سنة	41-50سنة	فوق 50 سنة
		Row N %	Row N %	Row N %
درجة التعبير عن EGF	-	0.00%	20.00%	80.00%
	+	0.00%	25.00%	75.00%
	++	0.00%	30.00%	70.00%
	+++	8.30%	33.30%	58.30%
	Subtotal	2.90%	28.60%	68.60%

_ جميع حالات المرضى بعمر تحت 40 سنة(الأعمار الفتية) كانوا إيجابيين EGF(+++) بنسبة 8.30 %

_ ونلاحظ أن درجة التعبير عن EGF (+) تزداد في الفئة العمرية فوق 50 سنة وتصل إلى 75 %

_ وكذلك درجة التعبير عن EGF (++) تزداد في الفئة العمرية فوق 50 سنة وتصل إلى70 %

_ وكذلك درجة التعبير عن EGF (+++) تزداد في الفئة العمرية فوق 50 سنة وتصل إلى 58.30 %

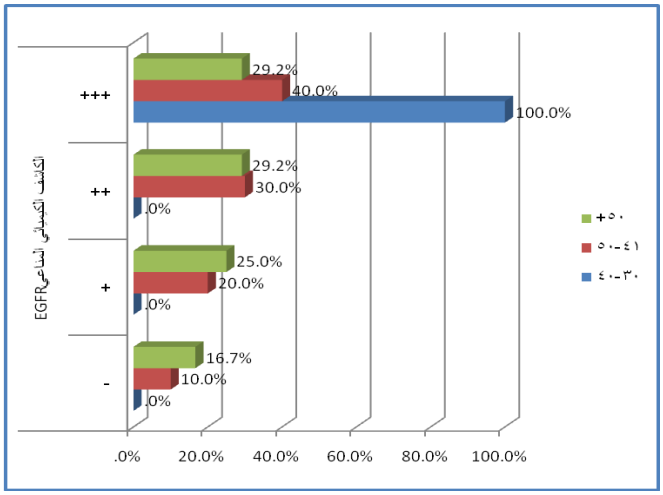
_ وكذلك نجد أن درجة التعبير عن EGF (-) تزداد في الفئة العمرية فوق 50 سنة لتصل إلى 80 %

وبإجراء اختبار كاي لإيجاد أثر الفئة العمرية على درجة التعبير عن EGF حصلنا على النتائج التالية الممثلة في الجدول رقم (21) .

الجدول رقم (21) أثر الفئة العمرية على درجة التعبير عن EGF

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.513[a]	6	.867
Likelihood Ratio	2.753	6	.839

من خلال الجدول نجد أن معنوية الدلالة sig=0.86 وهي أكبر من القياسية sig=0.05 إذا لايوجد أثر ذو دلالة احصائية لعمر المريض على متغير درجة التعبير عن EGFR.



الشكل رقم (20) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن EGF وعمر المريض

2-8 دراسة العلاقة بين درجة التعبير عن EGF و مكان الاصابة بـ OSCC

جدول رقم (22) يبين توزع عينة الدراسة بين درجة التعبير عنومكان الإصابة EGF

		درجة التعبير عن EGF				Total
		-	+	++	+++	
الشفة السفلية+ العلوية	النسبة	13.30%	40.00%	33.30%	13.30%	100.00%
اللسان وقاع الفم	النسبة	0.00%	16.70%	50.00%	33.30%	100.00%
قبة الحنك	النسبة	0.00%	33.30%	0.00%	66.70%	100.00%
اللثة والسنخ	النسبة	33.30%	0.00%	33.30%	33.30%	100.00%
دهليز لفم وباطن الخد	النسبة	25.00%	0.00%	12.50%	62.50%	100.00%
Total	النسبة	14.30%	22.90%	28.60%	34.30%	100.00%

توزع مكان الاصابة حسب درجة التعبير عن EGF

كانت درجة تعبير عن EGF في 53.3% من سرطانات الشفة سلبية أو إيجابية منخفضة (+) .

83.3 % من حالات إصابة اللسان و قاع الفم بالسرطان أبدت فيها الخلايا البشروية إيجابية مرتفعة (++) و (+++) لكاشف EGF .

74.5% من حالات إصابة دهليز الفم وباطن الخد بالسرطان أبدت فيها الخلايا البشروية إيجابية مرتفعة (++) و (+++) لكاشف EGF .

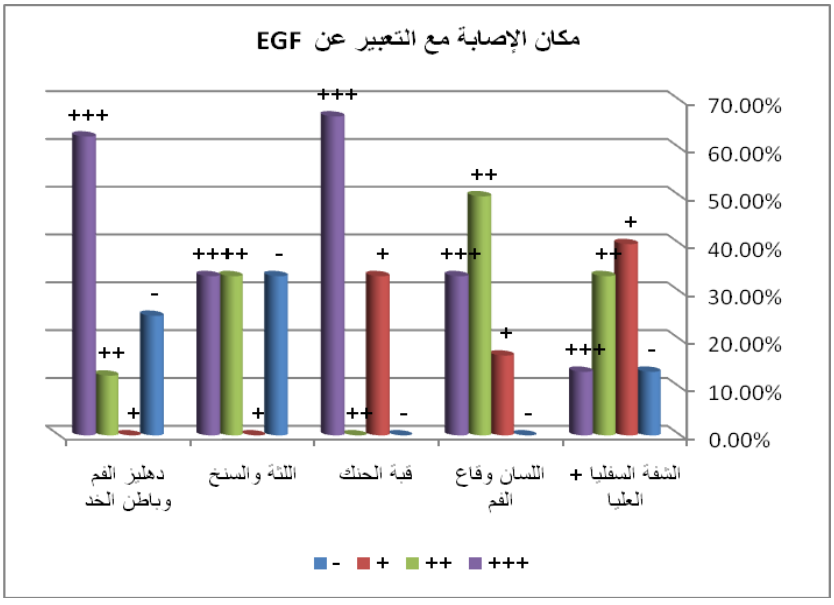
و تساوت درجة التعبير عن EGF (-) و (++) و (+++) عند الإصابة باللثة و السنخ لتشمل 33.30%

وباجراء دراسة الارتباط بين المتغير مكان الإصابة ودرجة التعبيرعن EGF حصلنا على النتائج التالية في الجدول رقم (23)

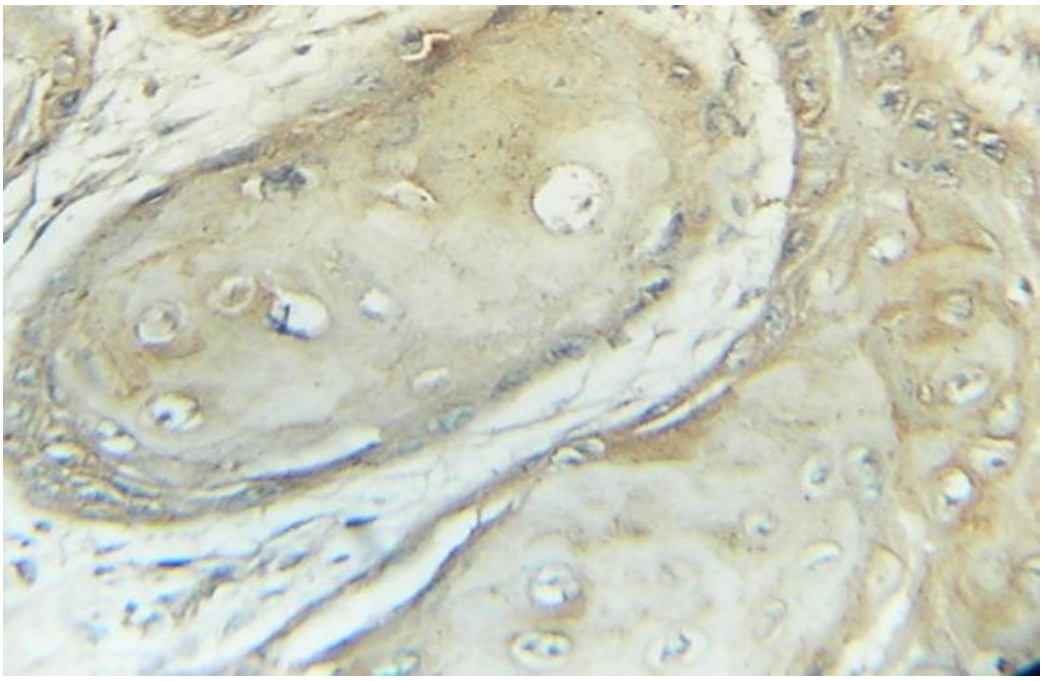
Spearman's rho	مكان الإصابة	Correlation Coefficient	.459
		Sig. (2-tailed)	.050
		N	35

من خلال الجدول نجد أن يوجد علاقة ارتباط ذات دلالة احصائية حيث معامل الارتباط r=45.9 % وهو ارتباط مقبول

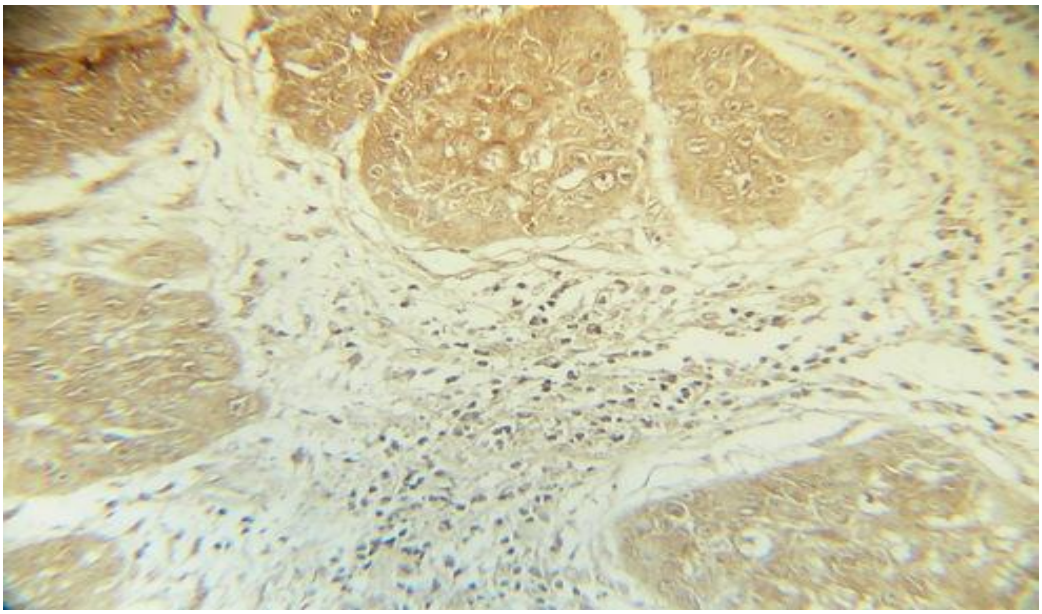
الشكل رقم (21) يبين العلاقة بين درجة التعبير عن EGF ومكان الإصابة



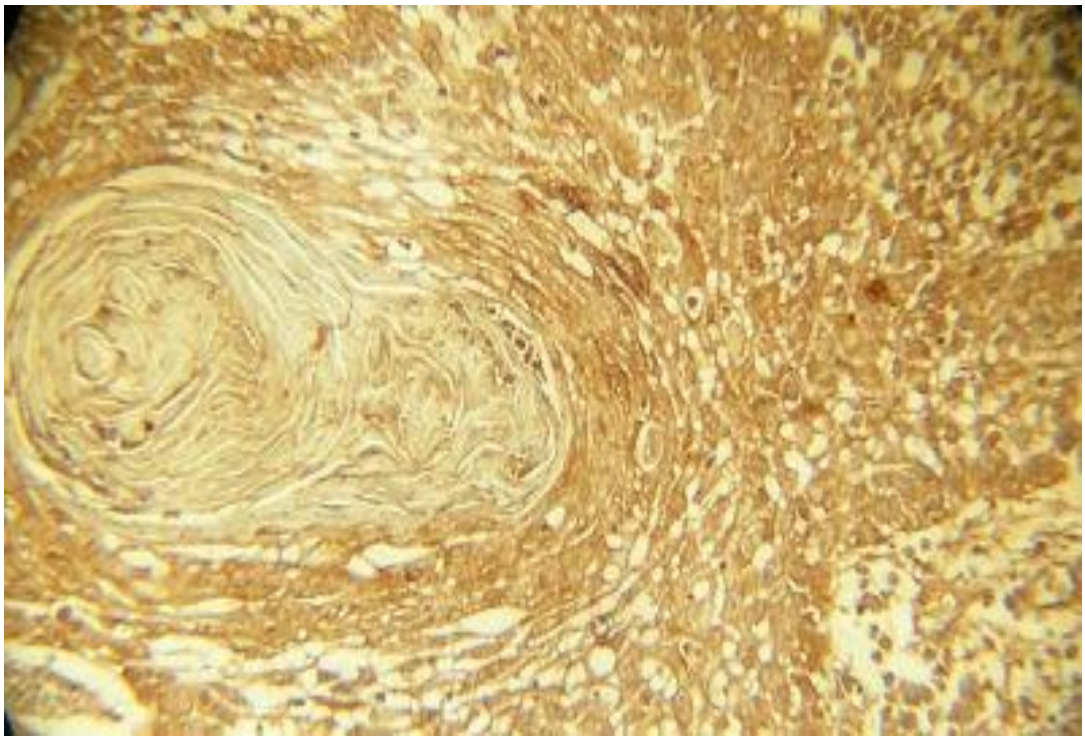
الصور النسيجية للعينات



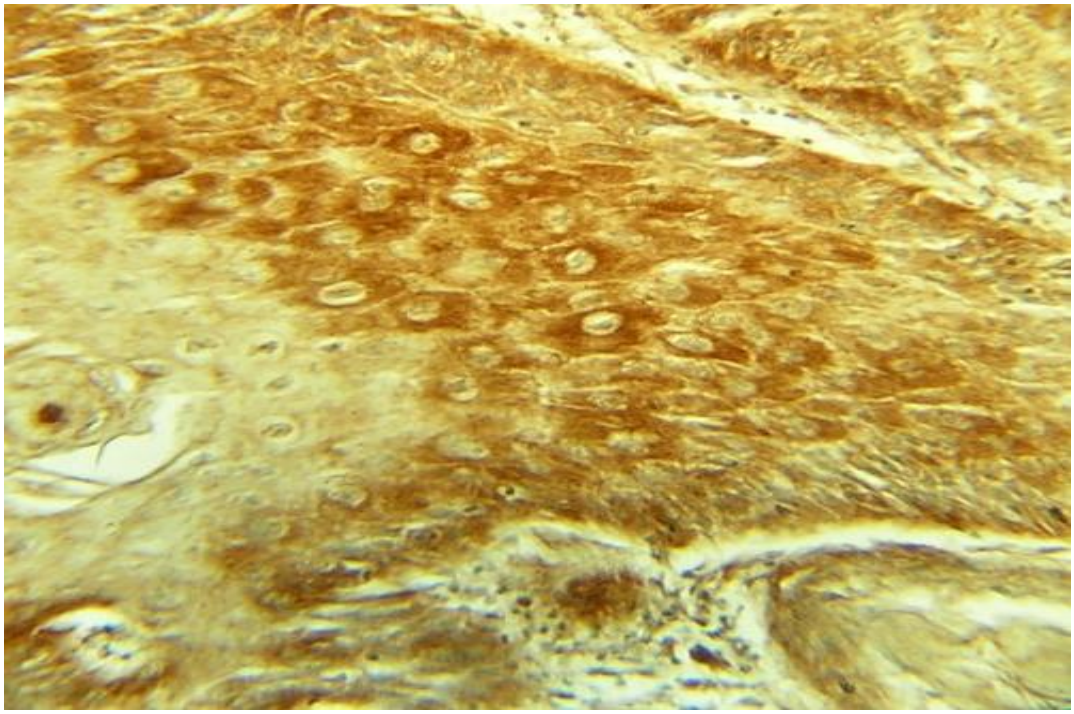
الشكل (22) EGF + في محيط الجزر الورمية مع وجود انقسامات شاذة



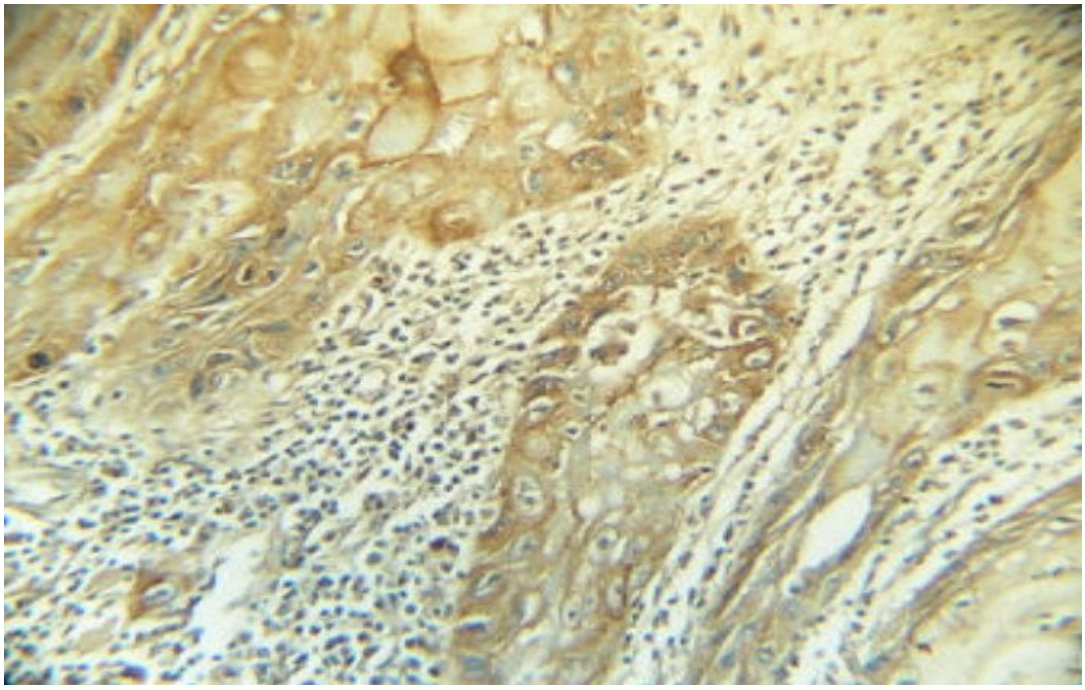
الشكل (23) EGF ++ مع وجود التهاب مجاور للجزر الورمية



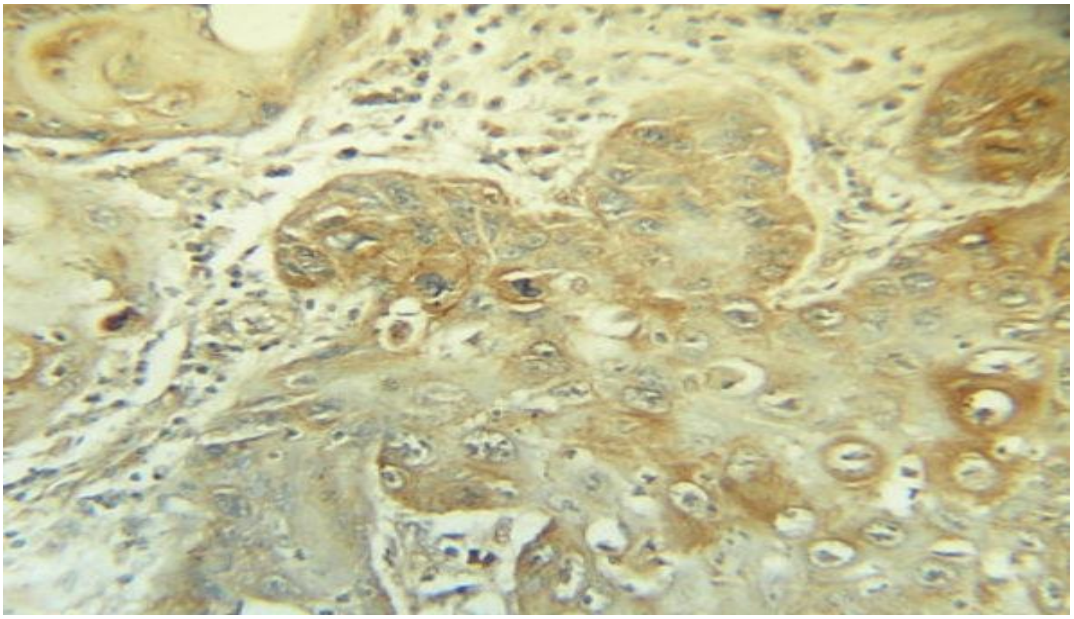
الشكل (24) +++ EGF في محيط الجزر الورمية grade I OSCC



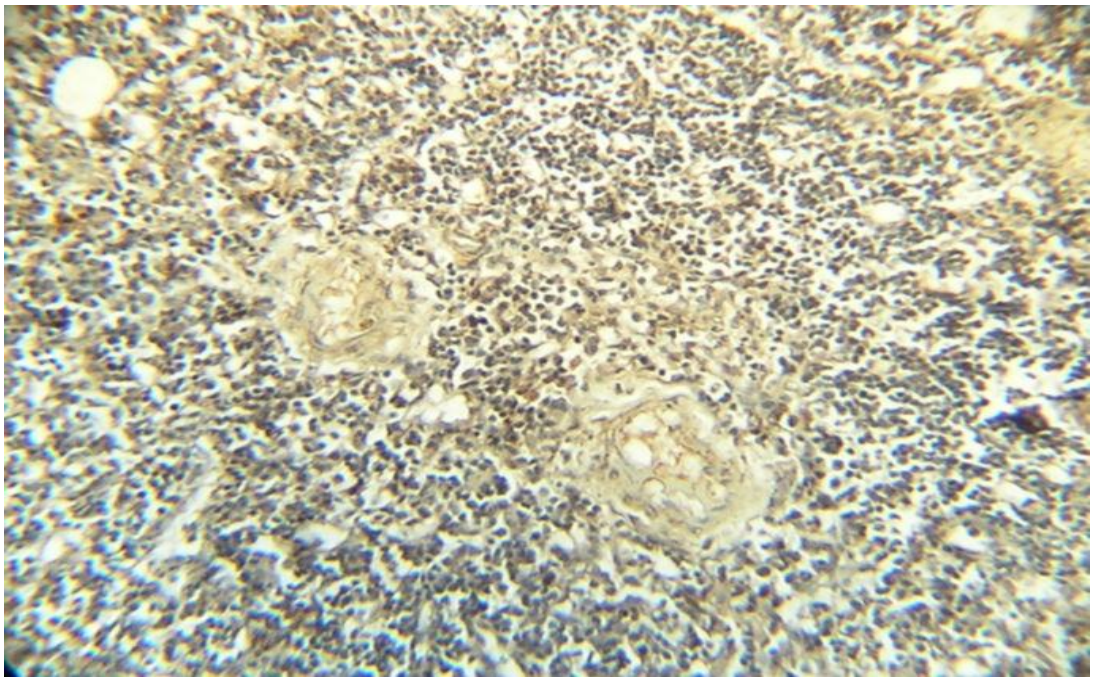
الشكل (25) +++ EGF في محيط الجزر الورمية OSCC درجة أولى grade I



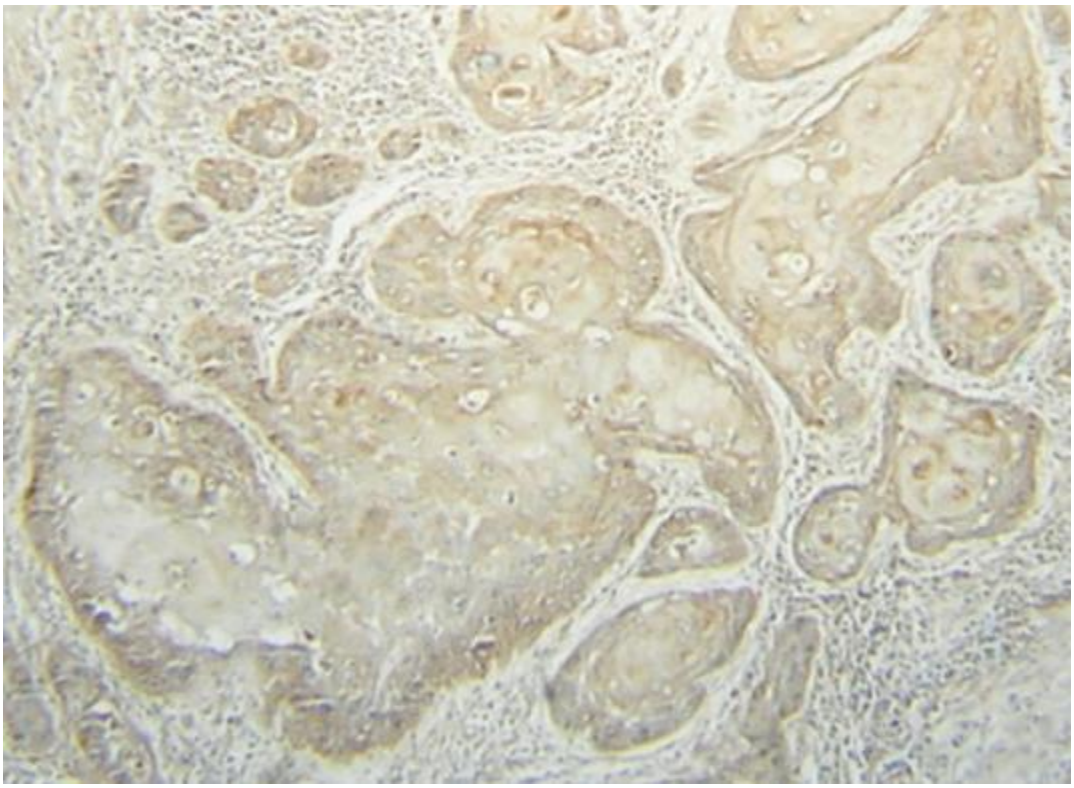
الشكل (26) ++ EGF في محيط الجزر الورمية + في المركز . مع وجود التهاب grade II OSCC .



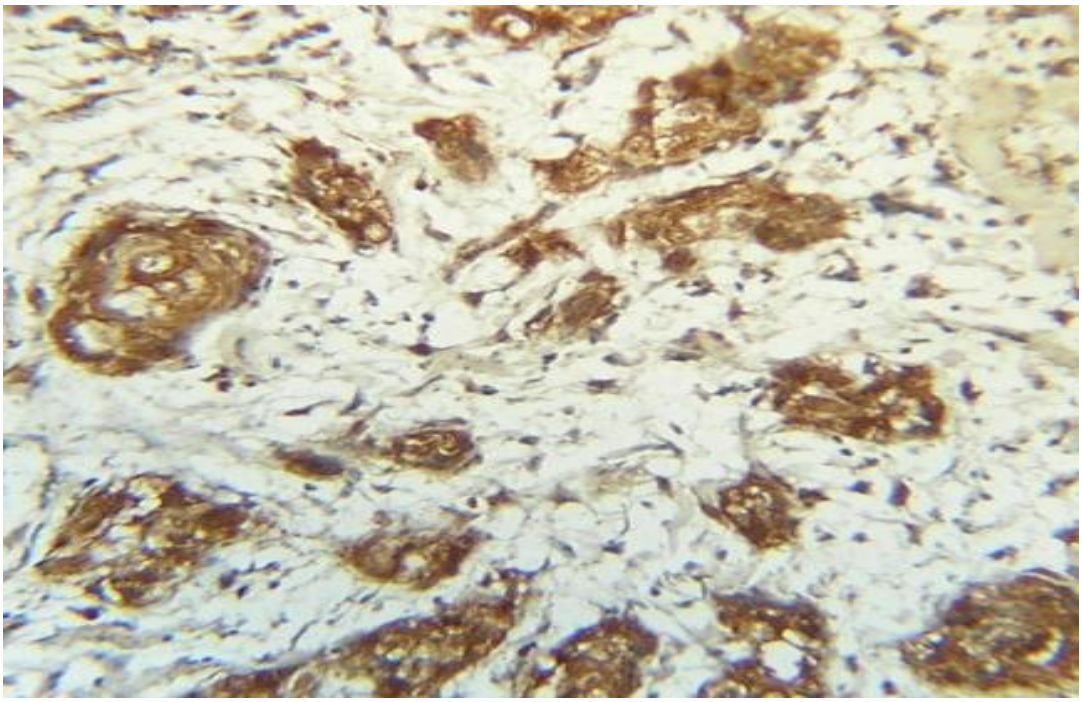
الشكل (27) ++ EGF في محيط الجزر الورمية + في المركز . مع فرط اصطباغ grade II OSCC .



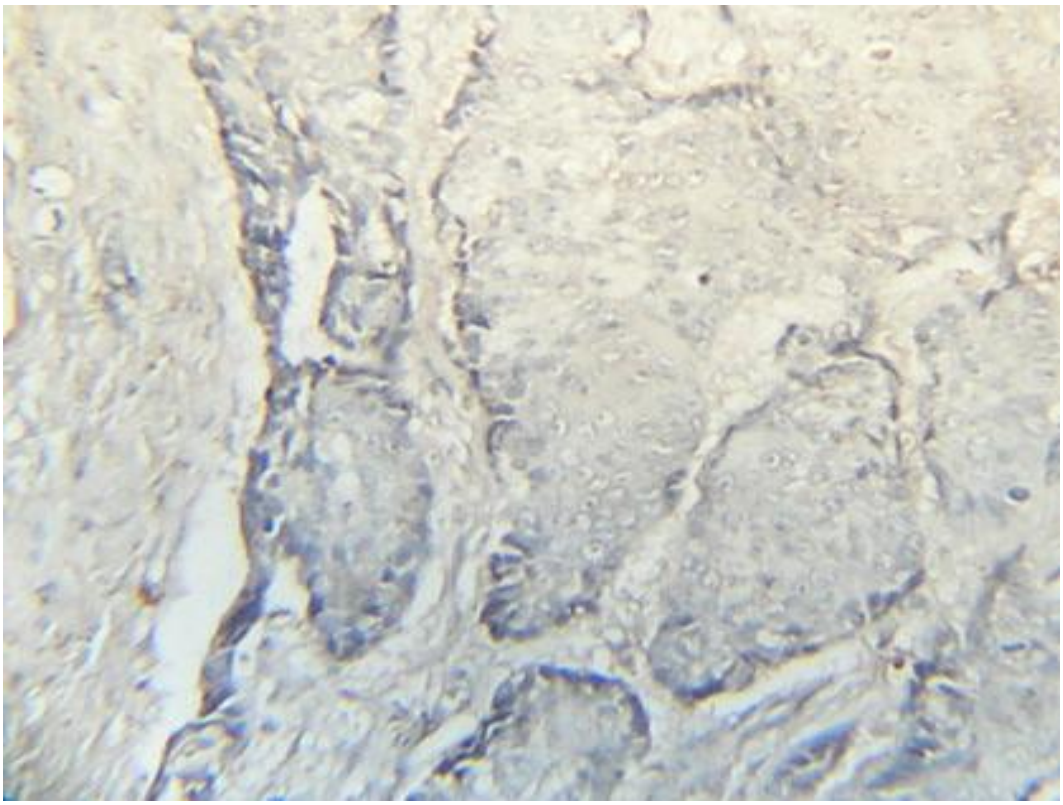
الشكل (28) إيجابية منخفضة + EGF . خلايا التهابية كثيفة و منتشرة OSCC grade II



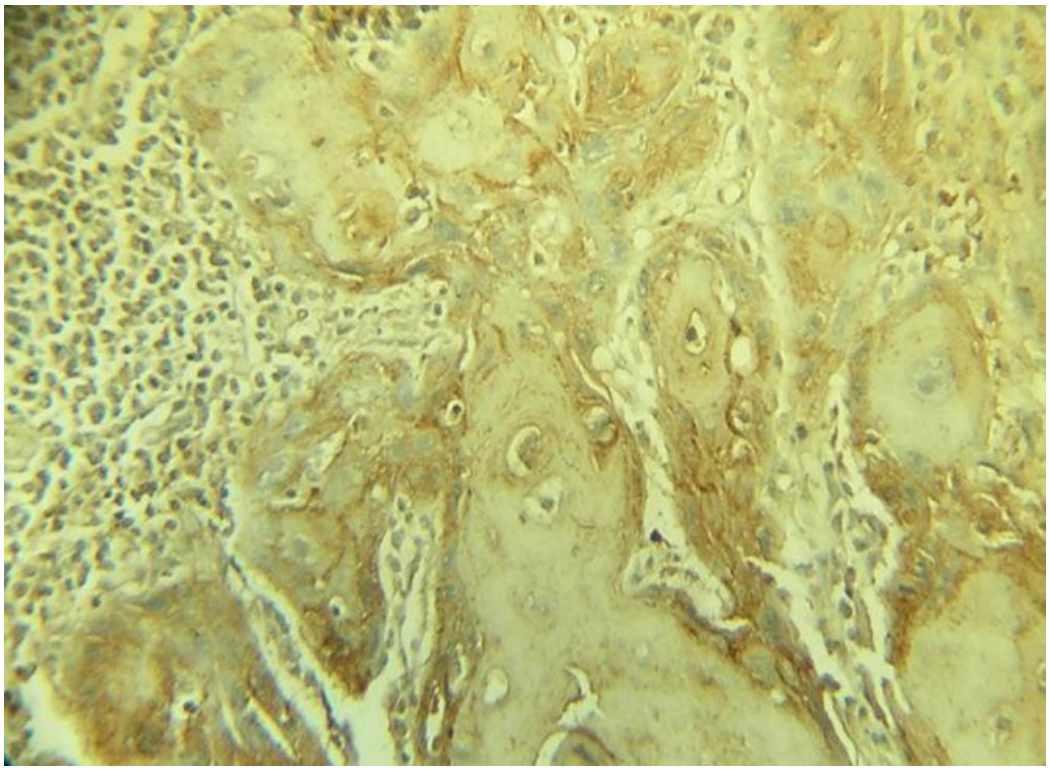
الشكل (29)إيجابية منخفضة +EGF وفي المحيط أكثر من المركز . OSCC grade I



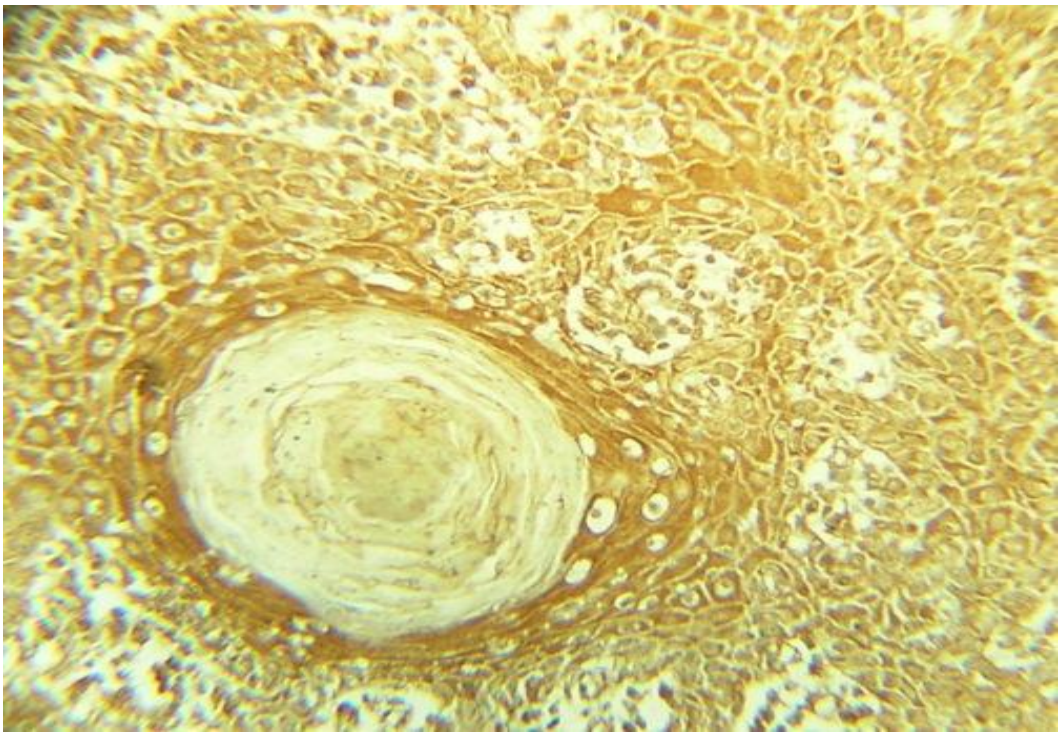
الشكل (30) إيجابية مرتفعة ++ + EGF . لا يوجد خلايا التهابية OSCC grade III



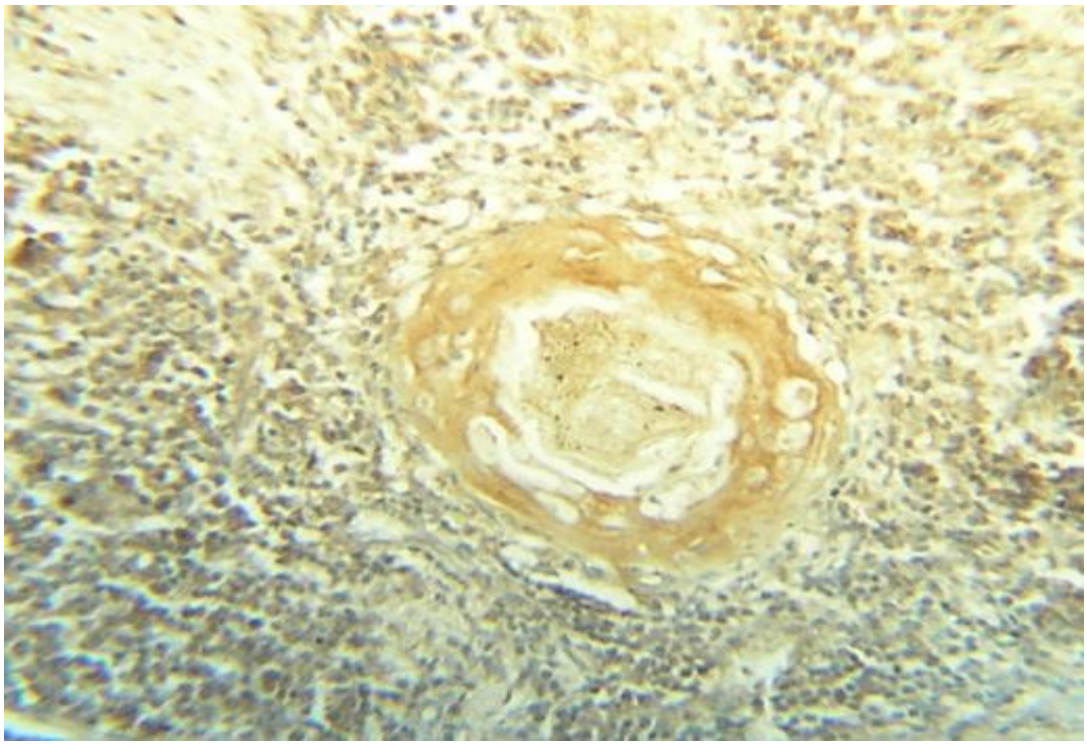
ا لشكل (31) EGF سلبي . سرطان عالي التمايز OSCC gradeI



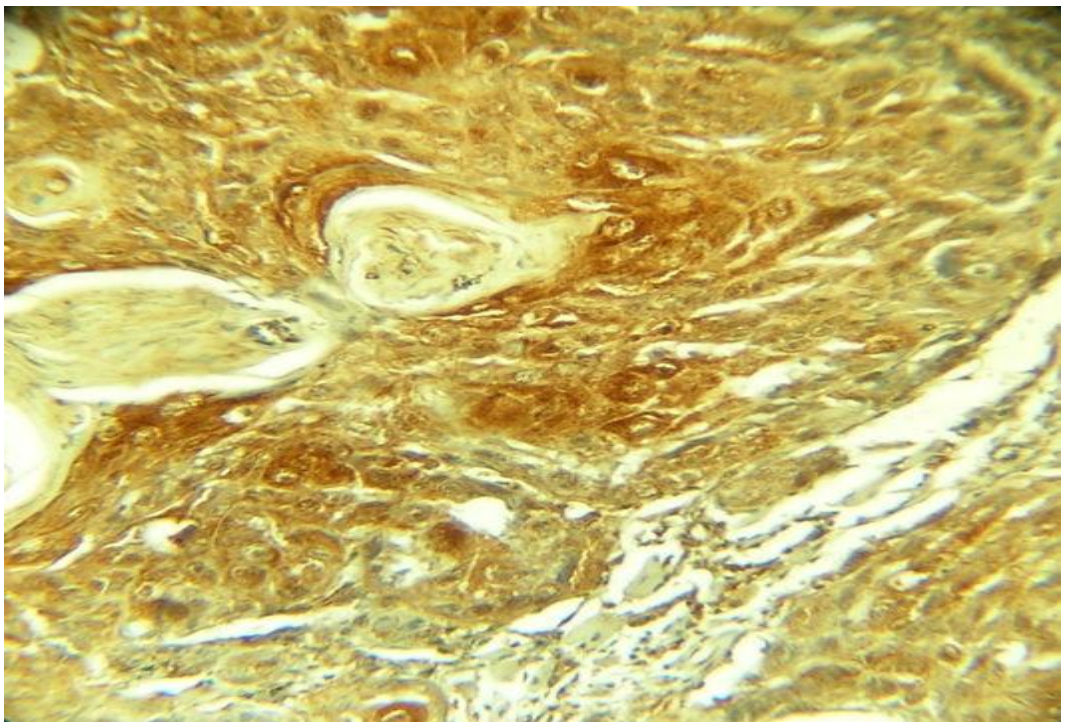
الشكل(32) EGF في المحيط ++ وبالمركز + grade I OSCC



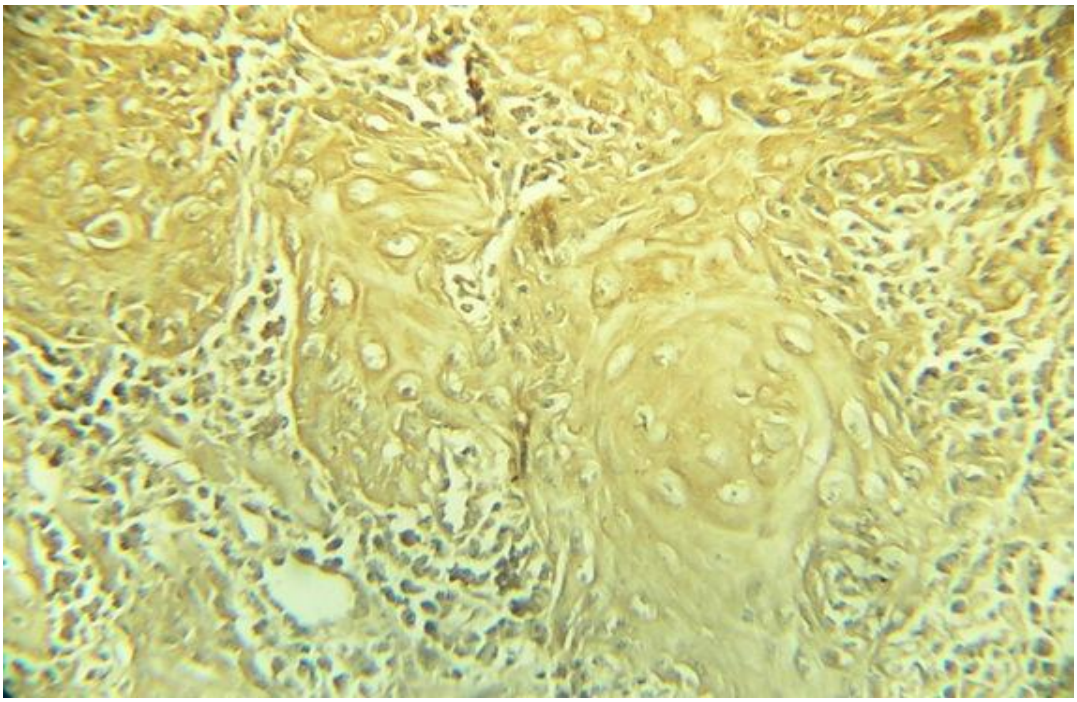
الشكل (33)EGF في المحيط +++ وبالمركز سلبي grade I OSCC



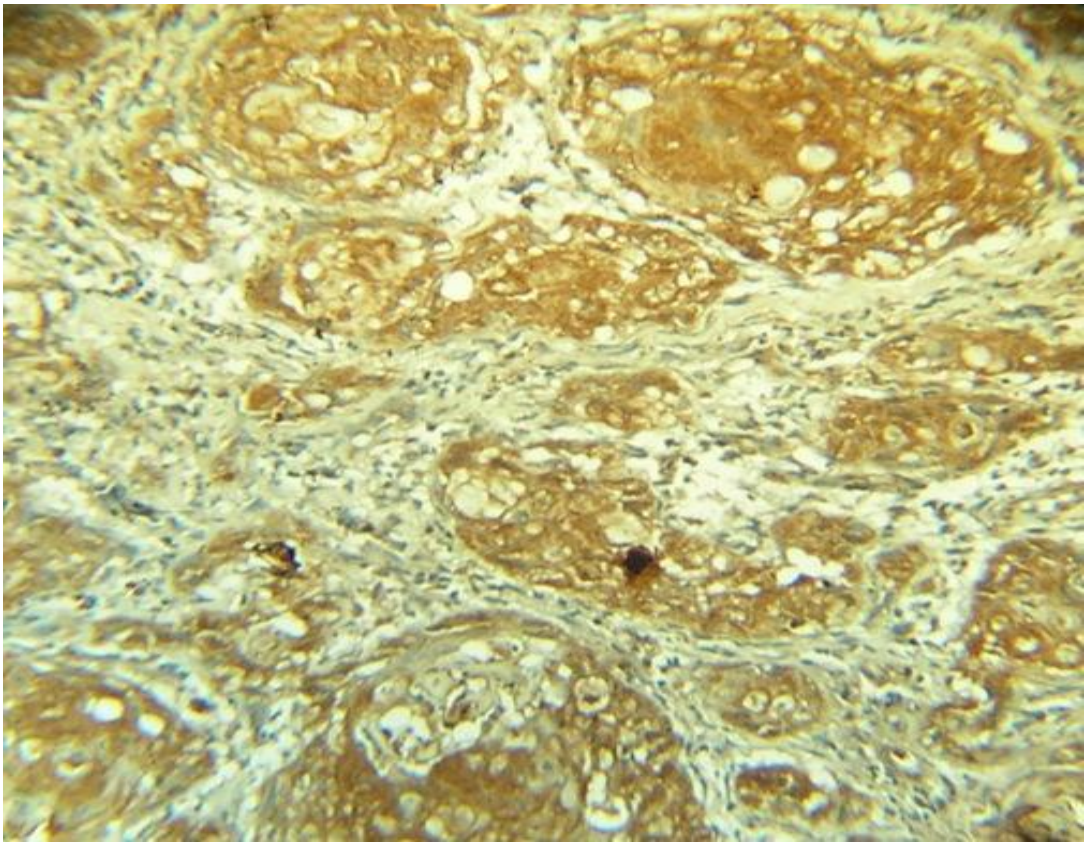
الشكل (34) إيجابية ++ EGF في محيط الجزيرة الورمية . خلايا التهابية كثيفة و منتشرة OSCC grade II



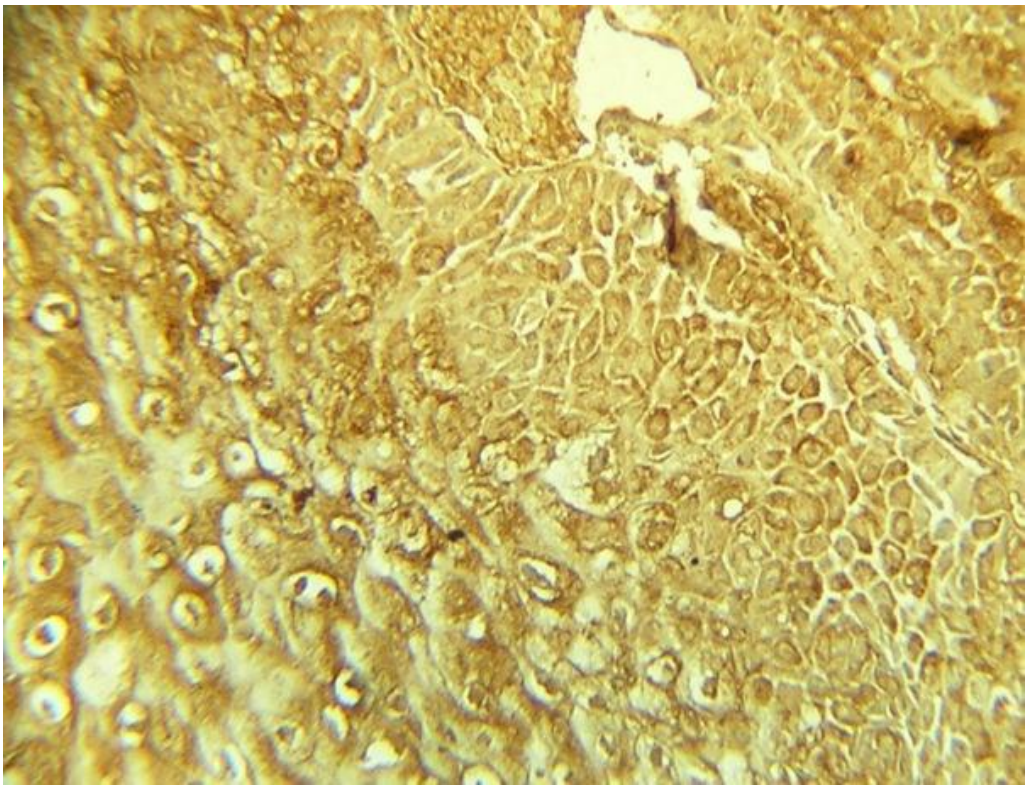
الشكل (35)إيجابية مرتفعة +++EGF وفي المحيط أكثر من المركز . OSCC grade I



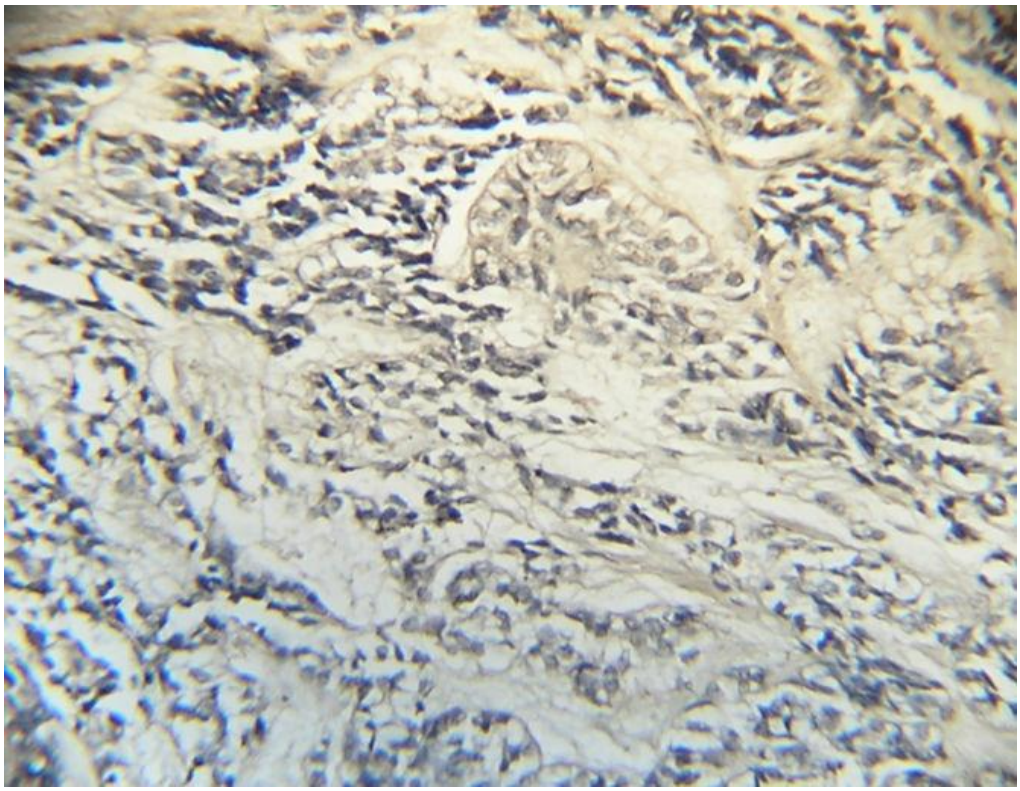
الشكل (36) إيجابية مرتفعة ++ EGF . مع وجود خلايا التهابية OSCC grade II



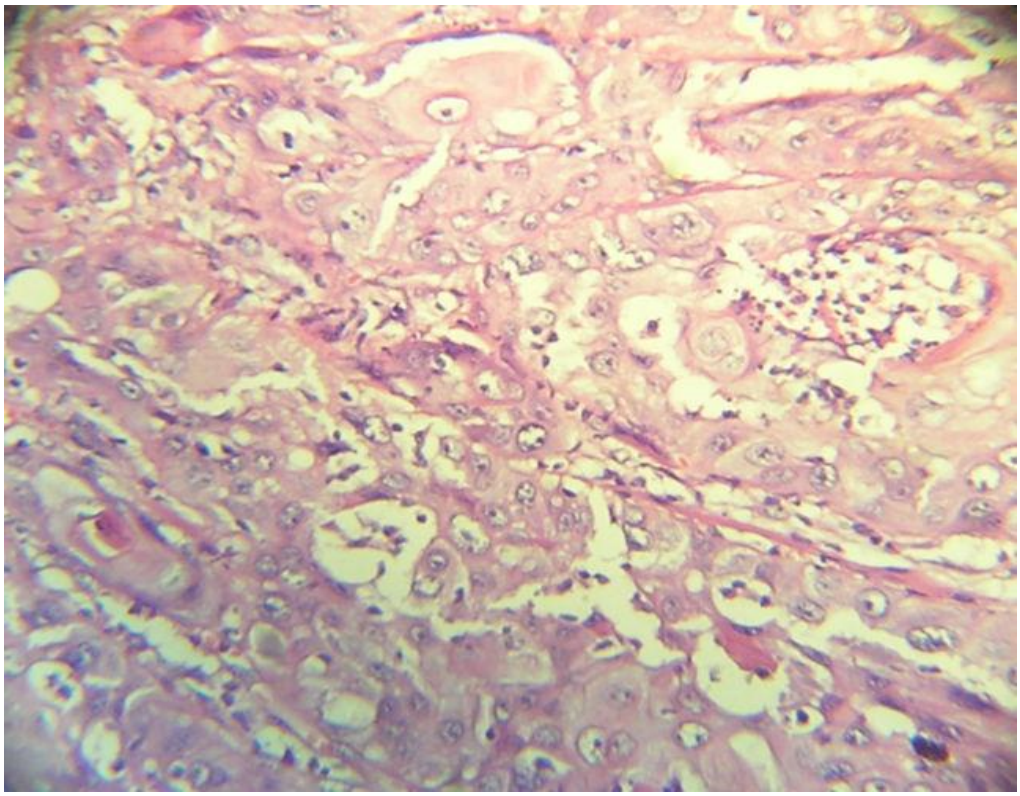
الشكل (37) EGF+++ مع وجود خلايا التهابية OSCC gradeII



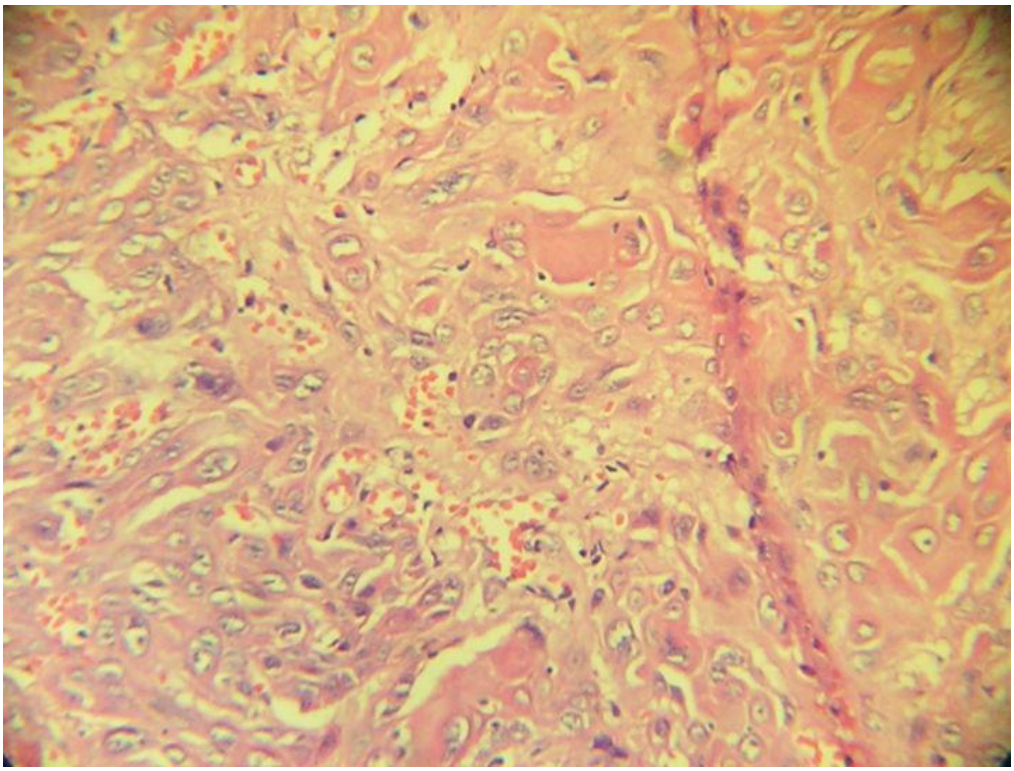
الشكل (38) EGF +++. وضوح النويات OSCC grade I



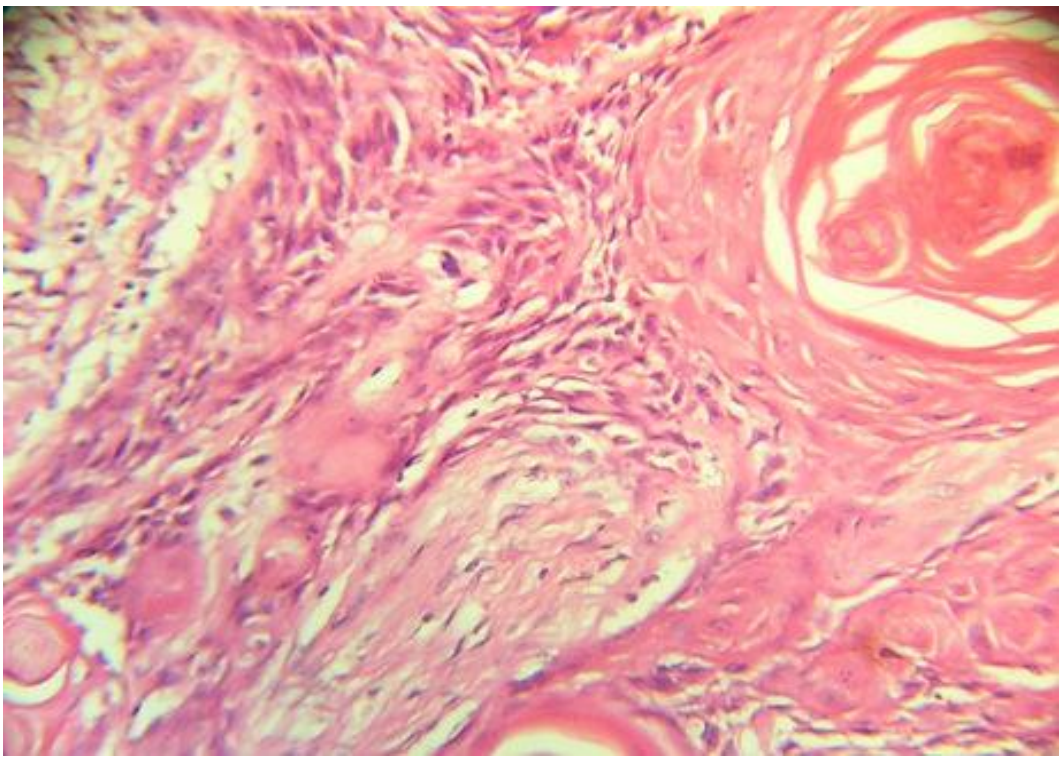
الشكل (39) EGF- سلبي OSCC gradeIII



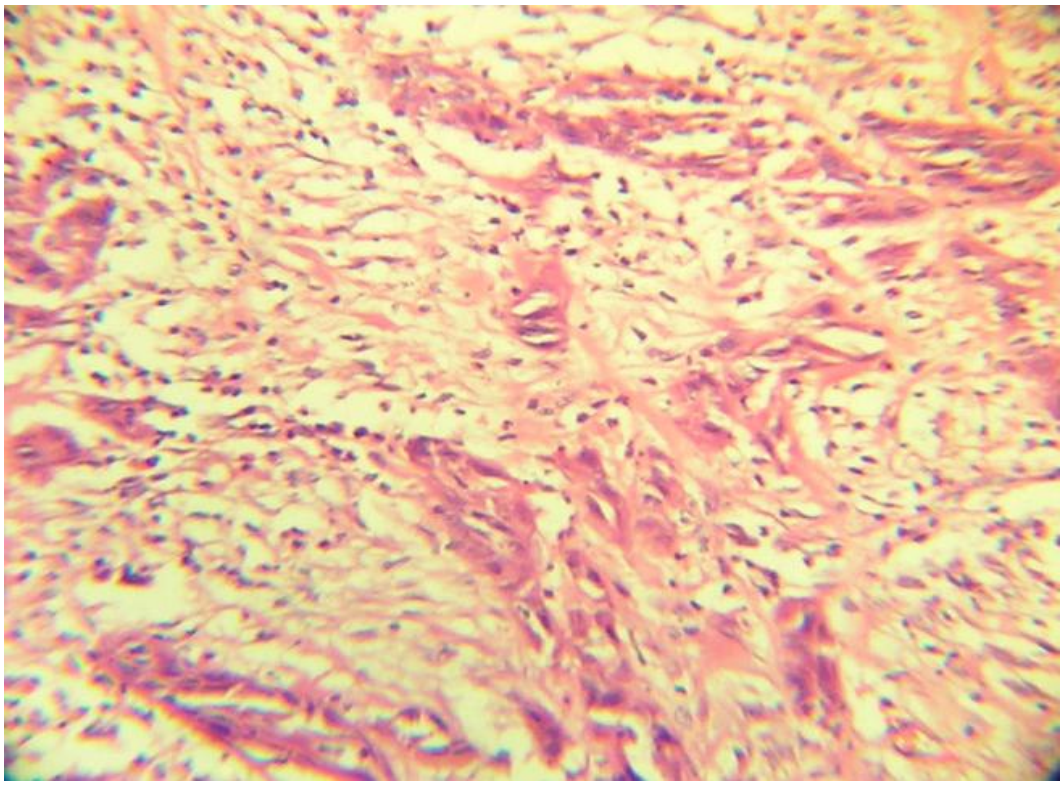
الشكل (40) OSCC grade II H&E وجود انقسامات شاذة



الشكل (41) H&E OSCC grade III تعدد أشكال الخلايا



الشكل (42) H&E OSCC grade I لا يوجد خلايا التهابية



الشكل (43) H&E OSCC grade III تعدد أشكال الخلايا ، ورشاحة التهالبية خفيفة

الباب الرابع : المناقشة
Discussion

يعد السرطان مرضاً مورثياً ينجم عن طفرة أو أكثر في المورثات ، تتراكم هذه التغيرات في سلاسل DNA ، و تسبب شذوذاً في الذخيرة المورثية للخلية ، إلا أنّه عندما تكون الخلية طبيعية يتوقف تكاثر الخلية ، و تتم عملية الإصلاح و الترميم ، بعدها يسمح للخلية بمتابعة حياتها بشكل عادي، أما إذا تعذر الإصلاح تبدأ آلية الموت المبرمج بالعمل على إفناء هذه الخلية الطافرة ، حتى لا تنتقل الطفرة إلى الخلايا البنات [1،3،28،68]

استغرق تحديد الآلية الإمراضية للسرطان الوقت و الجهد الكثير مما يدل على تعقيد السرطان ، هذا ما يجعل السرطان كلمة تثير الرعب و الذعر في قلوب الأطباء و الباحثين قبل المرضى عمد الباحثون إلى تطوير طرق التشخيص والكشف السريري و النسيجي للسرطان بهدف الوصول إلى وقاية أكبر و إمكانية للعلاج [1،6]

يصيب السرطان الذكور أكثر من الإناث ، فأغلب الحالات المدروسة في بحثنا من الذكور التي وصلت نسبة الإصابة لديهم إلى 68.6 % ولدى الإناث إلى 31.4% أي تقريباً بنسبة ثلثين إلى ثلث ،هذا يتوافق مع الدراسات السابقة التي تقول أن نسبة إصابة الذكور إلى الإناث هي 1:3 أو 1:2 [12،19،26،68،89،114،116] ربما يعزى ذلك إلى اختلاف الطبيعة الهرمونية و الفيزيولوجية لدى الجنسين ، واختلاف الصيغة الصبغية XY لدى الذكور و XX لدى الإناث ،و لأن الرجال أكثر تعاطياً للتبغ و التدخين و الكحول من الإناث [12،54] ، علماً أن نسبة إصابة النساء في تزايد مستمرفي الآونة الأخيرة بسبب تزايد إقبال النساء على التدخين و الأركيلة [12].

وجدنا في بحثنا أن نسبة الإصابة بالسرطان الفموي تزداد مع ازدياد عمر المريض ، حيث أنّ 68.6% من المصابين بـ OSCC بعمر فوق 50 سنة ، و 28.6% من حالات OSCC كانت بعمر بين 41–50 سنة ، هذا يتفق مع الدراسات التي قالت أن متوسط عمر الإصابة بالسرطان هو 60 سنة [20،116،117] و مع دراسات أخرى تقول أن 98% من مرضى OSCC أعمارهم فوق 40 سنة [12،19،21،22] ، ربما يكون سبب ذلك اضطراب توازن العوامل المنظمة للدورة الخلوية مع تقدم العمر، و انخفاض مستوى الرقابة الداخلية التي تفرضها تلك العوامل المنظمة لحياة الخلية ، فقد لوحظ تزايد مستوى بروتينات المورثة P53 مع تقدم العمر نتيجة لنقص القدرة الترميمية للـ DNA ، ولأن التقدم بالعمر يعتبر ظاهرة فيزيولوجية طبيعية يهرم معها النسيج البشروي أيضاً . هذا يفسر إمكانية حدوث تغيرات خبيثة في المخاطية الفموية عند كبار السن أكثر من الشباب و اليافعين [96] .

وجدنا في الدراسة الإحصائية أن كامل إصابات الشفة السفلية بـ OSCC ،و أغلب إصابات كل من اللسان و قاع الفم و قبة الحنك واللثة وحتى السنخ كانت موجودة في الأعمار المتقدمة فوق 50 سنة ، وبذلك نتفق في ذلك مع الدراسات السابقة التي تقول أن سرطان الشفة من أكثر السرطانات الفموية تواجداً (25-30%) في الحفرة الفموية [19،12] ، فقد كانت نسبة إصابة الشفة 65% في دراسة Barakat [116] و52% في دراسة Addas [117] ، و كانت 30% من إصابات الشفة في العقد الخامس والسادس من العمر في دراسة Alkazaz [152]

ربما يكون السبب المسؤول عن تركز الإصابة في الشفة [152،117،116] هو تدخين السجائر و الغليون و التخريش المزمن للشفة ، وزيادة تعرضها للرض وخاصةً عند كبار السن ، بالإضافة إلى التعرض الزائد لأشعة الشمس ، فالأشعة فوق البنفسجية لها تأثير تراكمي ، يتسبب بأذية و تخريب لسلاسل الـ DNA ، مما يسبب حدوث طفرات مورثية ، أما بالنسبة للثة و قبة الحنك و باقي أجزاء الفم ، فربما يكون الرض المستمر و التخريش المزمن عاملاً مسرطناً مسبباً لتلك الحالات .

تركزت إصابات الأعمار الفتية بـ OSCC في بحثنا في دهليز الفم و باطن الخد بنسبة 12.5% علما أنه تم اختيار عينات البحث بشكل عشوائي . يعود ذلك ربما إلى مرض العصر الحديث stress أو ما يسمى بالشدة النفسية التي باتت تلازم جيل الشباب ، والتي تترافق أحياناً مع عض باطن الخد ، مما يسبب تخريشاً ورضاً مستمراً ، و لا يخفى دور الرض المزمن كمسبب لـ OSCC . نتفق في ذلك مع REGEZI [12] التي تقول أن نسبة تشكله في دهليز الفم 9% من إصابات السرطان الفموية [12]

وجدنا في بحثنا أن نسبة 62.8% من الحالات تحوي كرات تقرن معكوس ، بينما غابت كرات التقرن في 37.2% . أي أنّ ثلثي الحالات هي سرطانات تحوي كرات تقرن معكوس ، نتفق في ذلك مع الدراسات السابقة التي تقول يمكن مشاهدة كرات التقرن المعكوس ولآلئ القرنين في السرطان البشروي شائك الخلايا عالي التمايز REGEZI[12] و Neville [19] ودراسة Cawson[39،33]، بينما كان وجود كرات التقرن المعكوس في حالات OSCC 60.9 % وغابت هذه الكرات بنسبة39.1% في دراسة Barakat [116]، وتصبح النسبة 70% تحوي كرات تقرن معكوس وتغيب كرات التقرن بنسبة 30% في دراسة Addas [117]

يعود سبب ذلك إلى أن معظم حالات OSCC هي سرطانات عالية أو معتدلة التمايز، بمعنى آخر أنّ الخلايا السرطانية تشبه إلى حد ما الخلايا البشروية الفموية الطبيعية ، و لم تفقد وظيفتها بعد بشكل كامل ، فهي تقوم بتصنيع القرنين على شكل كرات تقرن معكوس ، لذلك وجدنا أنّ 62.8 % من حالات OSCC قادرة على تشكيل القرنين .

فالتقييم النسيجي للـ OSCC يعتمد على درجة قرب الخلايا شكليا من الخلايا الطبيعية وعلى وجود المنتج الطبيعي لهذه الخلايا وهو القرنين . [19،12] وحديثاً تمّ الاعتماد على الكواشف المناعية كعامل إضافي في تحديد درجة الخبث وحتى إنذار المعالجة .

تصنف السرطانات البشروية شائكة الخلايا في ثلاث أو أربع درجات ، تكون الأورام الأكثر تمايزاً هي الأقل درجة أولى grade I ،أو درجة ثانية grade II (وهي الأكثر شبهاً بالخلايا البشروية الطبيعية) . والأورام الأقل تمايزاً هي الأعلى درجة (درجة ثالثة grade III ، أو درجة رابعة gradeIV (وهي الأكثر خبثاً) [19] رغم أنّ بعض الدراسات [19] صنفت السرطان البشروي كما صنفناه في دراستنا إلى ثلاث درجات فقط .

– درجة أولى جيدة التمايز ، اللانموذجية الخلوية في حدودها الدنيا ،و الخلايا السرطانية تشبه في شكلها الخلايا الطبيعية ،وتشمل ربع الساحات المدروسة

– درجة ثانية معتدلة التمايز ، اللانموذجية الخلوية في حدودها المتوسطة ، وتشمل نصف الساحات المدروسة ،الخلايا ما تزال تشبه نسبياً شكل الخلايا الطبيعية ، مع نقص أدائها الوظيفي الذي يتجلى بغياب القرنين .

– درجة ثالثة سيئة التمايز ، ويسمى بالسرطان قليل التمايز . اللانموذجية الخلوية في حدودها العظمى ، و وتشمل أكثر من نصف الساحات المدروسة ،. تكون خلاياه بعيدة تماماً عن شكل خلايا النسيج الطبيعي ، مع درجة أعلى من علائم اللانموذجية الخلوية، و فشل في قدرة الخلايا السرطانية على تشكيل القرنين ، ويكون تحديد المنشأ النسيجي للخلايا صعباً . يتميز هذ ا الورم بسرعة الانتشار والاستعمار [19]

شمل بحثنا نسبة 62.8% حالةOSCC درجة أولى ، و 25.7% حالة OSCC درجة ثانية ، و 11.5 % حالة OSCC درجة ثالثة. نتفق في ذلك مع بعض الدراسات التي تقول أنّه يمكن مشاهدة التقرن الفردي (لآلئ القرنين) في السرطان البشري شائك الخلايا عالي التمايز درجة أولى ، أما الأورام قليلة التمايز فلا نشاهد فيها أية دلائل على التقرن بسبب وجود درجة عالية من اللانموذجية الخلوية [117،116،34،33].

وذلك لأن أغلب السرطانات الفموية هي سرطانات درجة أولى عالية التمايز، تشبه خلاياها خلايا النسيج الطبيعي من حيث الشكل و أداء الوظيفة (تصنيع القرنين) مع وجود علائم اللانموذجية الخلوية Cellular atypism من سوء تصنع (الثدن) ، فرط اصطباغ النواة ، تعدد أشكال الخلايا ، اختلال النسبة بين النواة و الهيولى ،والانقسامات الشاذة ، وحسب درجة السرطان تختلف شدة علائم اللانموذجية الخلوية

لم تقتصرالدراسات الحديثة على تناول البنية السريرية والنسيجية للسرطان بل تعدتها إلى دراسة البنية المورثية والطفرات التي تطرأ عليها والتي تلعب دور المفتاح الرئيسي في الآلية الإمراضية للسرطان ، وفي ترقي الإصابة ، وحتى في المعالجة والإنذار [94]

لذلك استخدمنا في بحثنا كاشف عامل النمو البشروي الإنساني EGF لتحديد درجة التعبير عنEGF ، لما له من أهمية في إعطاء فكرة واضحة عما يحدث من شذوذات وظيفية في الخلية تساعدنا على التشخيص الصحيح و ترشدنا ربما إلى العلاج المناسب .

EGFR مستقبل عامل النمو البشروي هو غليكو بروتين عابر للغشاء الخلوي ، يعتبر مستقبلاً أحادي الرابطة ، ينظم الدورة الخلوية ، فيزيد التكاثر الخلوي للخلايا السرطانية [113،121،122] و يعتبر عاملاً مهماً في الفيزيولوجيا المرضية لكثير من الآليات التي تدخل في السرطان [136].

أظهرت نتائج بحثنا تلوناً إيجابياً بنسبة 86% من العيناتً لكاشف EGF بينما 14% من العينات لم تتلون (تلون سلبي) ، نتفق في ذلك مع الدراسات التي أظهرت زيادة التعبير ع ن EGF في سرطانات الرأس و العنق بنسبة كبيرة [65،123،142،148،149] تتراوح بين (43%-92%) [127] ، يعود سبب هذه المكانة الحيوية لـ EGF للدور الواضح له كمبدئ و محرض و مطور للآفات الفموية السرطانية .

لاحظنا في بحثنا أن أغلب الخلايا السرطانية التي تلونت بشكل جيد هي الخلايا الموجودة في محيط الجزر الورمية 74.3% ،ويوجد11.4% فقط أظهرت تلوناً للخلايا السرطانية في كل من محيط ومركز الكتل الخلوية .

ربما يعود سبب تركز إيجابية كاشف EGF في الخلايا السرطانية المحيطية إلى قيام الخلايا البشرية المركزية بتصنيع القرنين على شكل كرات تقرن معكوس في OSCC عالي التمايز . تعيق ربما مادة القرنين المتشكلة وصول كاشف EGF إلى هذه الخلايا المركزية ، بينما تتلون الخلايا السرطانية المحيطية والمركزية في السرطانات العالية الخبث ، التي تكون غالباً من الدرجة الثالثة ، لأنه في هذا النوع من السرطانات ، تغيب كرات التقرن المعكوس، بسبب عجز الخلايا البشروية عن أداء وظيفتها ، حيث تنفصل الخلايا البشروية السرطانية عن بعضها ، و تضعف قدرتها على التماسك والالتصاق مع مجاوراتها في هذه الدرجة من السرطانات [117]

وجدنا أيضاً أن 14.3% من الحالات أظهرت تلوناً سلبياً لكاشف EGF ، ربما يعود ذلك لأسباب تتعلق بشروط حفظ الخزعة فور استئصالها ، فمن الواجب وضعها مباشرة بالفورمول لأنّ حفظها بمواد أخرى مثل السيروم أو الكحول يخربها. رغم حرصنا على أخذ عينات حديثة وواضحة التلوين بملوني الهيماتوكسين والإيوزين. أوربما لوجود آليات أخرى تتحكم بالخلايا

السرطانية فالقرنين وحده لا يكفي حديثاً لتحديد درجة الخباثة . ولذلك أقترح إدراج درجة التعبير عن EGF كأحد العوامل المهمة في تحديد درجة الخبث .

لقد ازدادت إيجابية EGF في بحثنا من 23% في EGF (+) إلى 35% في EGF (++) لتصل إلى أعلى نسبة 42% في EGF (+++)عندما كان تلون الخلايا السرطانية محيطي ، أما عندما كان تلون الخلايا السرطانية محيطي و مركزي كانت أعلى نسبة لدرجة التعبير عن EGF هي 50% في EGF (+)

لم أجد دراسة سابقة تفصل إيجابية درجة التعبير عن EGF في درجات + أو ++ أو +++ بل اكتفت بتلون إيجابي أو سلبي فقط لـ EGF ،لذلك اكتفيت بإجراء المقارنة مع الدراسات السابقة عن التلون الإيجابي أو السلبي فقط والمذكور سابقاً .

يعود سبب ازدياد إيجابية التلون المحيطي أوالمحيطي و المركزي مع درجة التعبير عن EGF ربما إلى الدور الحساس لـ EGF في النشاطات الحيوية المختلفة للسرطان ، و في التقدم الورمي الخبيث داخل الجسم ، فهو ينبه بروتينات سيتوبلاسمية كامنة تؤدي إلى نشاط انتساخي للجينات ، يؤثر على التكون الورمي والتكاثر الخلوي والهجرة ومعدل البقيا [135].

لذلك يعتبر مستقبل EGF في OSCC مشعراً مفيداً للتعرف على التغيرات السريرية النسيجية والبيولوجية الحاصلة في OSCC ، نختلف في ذلك مع دراسة أجراها Diniz-Freitas [151] ، استخدم فيها الطرق الكيمائية المناعية النسيجية بنظام Pharma DX Kit لتحديد دور EGERفي OSCC [151] فلم يظهر لدرجة التعبيرعن EGER أية ارتباطات ذات قيمة إحصائية مع أي من المتغيرات السريرية النسيجية والبيولوجية أو حتى الإنذارية . نظراً لهذا التضارب والاختلاف في دور EGFR في OSCC اخترنا دراستنا لنحدد تماماً دور EGFR وعلاقته بـ OSCC .

سمح كاشف عامل النمو البشروي الإنساني EGF بإعطاء فكرة واضحة عما يحدث ضمن الخلية السرطانية من اضطرابات وظيفية سواء كانت تتعلق بطبيعة المفرزات أو المدخرات في الخلية ،أو بنوعية البروتينات المصنعة ، أو المستقبلات الخلوية التي تظهرها الخلية ، هذا من شأنه أن يساعد و يعزز على وضع تشخيص أدق ، و يرشد ربما إلى نوعية العلاج المناسب .

لقد حاولنا في هذا البحث ربط درجة التعبير عن EGF ببعض المعطيات النسيجية المميزة لـ OSCC ، وهي علائم اللا نموذجية الخلوية فوجدنا ازدياد نسبة كل من وضوح النويات وتعدد أشكال الخلايا و اختلال نسبة الحجم بين النواة والهيولىّ Ratio ، والانقسامات الشاذة كلما زادت درجة التعبيرعن عامل النمو البشروي EGF تدرجاً من الايجابية الخفيفة + إلى الايجابية المتوسطة ++ إلى الايجابية الشديدة+++ .

فعندما كانت درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (+++) وصلت علائم الخبث الخلوي أعلى نسب لها فكانت نسبة وضوح النويات 50 % ، تعدد أشكال الخلايا 47 % ، اختلال نسبة الحجم بين النواة والهيولى Ratio 75 %، والانقسامات الشاذة 41 % . نتفق في ذلك مع الدراسات السابقة كدراسة Dawson [113] و Yoon [114] و Torres castro [150] ، التي قالت أن وجود EGFR كان مفرطاً في الأورام سيئة التمايز التي تحوي نسبة عالية من علائم الخبث الخلوي [128،113]، مع نقص في الأداء الوظيفي للخلايا البشرية على تصنيع القرنين [123]، ودراسات أخرى قالت أنه لوحظ ازدياد متواتر في درجة التعبيرعن EGFR في كل الطبقات النسيجية للبشرات المخاطية السرطانية في السرطانات منخفضة التمايز كدراسة Claudie Hooper [109] .

إنّ تزايد فعالية EGF مع ازدياد تقدم OSCC يزيد من ارتباطه على مستقبله EGFR مما يسرع من تطور سير الورم وتقدمه حيث ترتبط كمية كبيرة من عامل النموالبشروي EGF على منطقة اللجين (منطقة الارتباط) على محيط الغشاء الخلوي، مما يفعّل آلية البروتين كيناز داخل الخلوي بواسطة عملية فسفرة ذاتية للهيولي ، و تتفعل بدورها بروتينات ضمن الهيولي تثير شلال الإشارة بدءً من الهيولي لينتقل إلى النواة [126] ،هذا من شأنه أن يزيد التكاثر الخلوي و يحرض على الانقسام اللامضبوط ، فتظهر الانقسامات الشاذة ، و يسبب اضطراباً في توازن الدورة الخلوية ، فتظهر الأشكال المتعددة للخلايا البشرية ، وغيرها من علائم اللانموذجية الخلوية .

وجدنا في بحثنا وجود علاقة عكسية بين درجة التعبير عن EGF ووجود كرات التقرن المعكوس ، فلقد أظهر بحثنا تناقص وجود كرات التقرن لتصل إلى أقل نسبة 23% عندما تكون درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (+++) ، و ازداد غياب كرات التقرن المعكوس ليصل إلى أعلى نسبة 54% عند درجة التعبير عن EGF (+++) ، نتفق في ذلك مع الدراسات السابقة التي أكدت ازدياد متواتر في درجة التعبيرعن EGFR في كل الطبقات النسيجية للبشرات المخاطية السرطانية في السرطانات المتقدمة [126،113،109]

مما يشير إلى التورط الواضح لـ EGF في بدء السرطان الفموي و التحريض على تطوره ، وزيادة علائم اللانموذجية الخلوية التي تفقد معها الخلايا البشروية قدرتها على تصنيع القرنين ، فتغيب كرات التقرن المعكوس عند درجة التعبير عن EGF (+++) ، بسبب زيادة علائم اللانموذجية و الخبث الخلوي في المخاطية السرطانية المتقدمة ، وفقدانها لوظيفة تصنيع القرنين لبعدها عن المنشأ النسيجي للخلايا الفموية البشروية الطبيعية . بينما تكون أعلى نسبة لوجود كرات التقرن عند EGF (+) بسبب وجود كمية أقل منEGF ، وبالتالي تطوراً أبطئ للسرطان ونسبة أكبر من التمايز، تبقى فيها الخلايا البشروية قادرة على تصنيع القرنين.

هذا يعني أن هناك علاقة ارتباط عكسية بين درجة التعبير عن EGF ووجود كرات التقرن المعكوس ،هذا الارتباط يصل إلى 33 % .

وجدنا في بحثنا **أن** هناك علاقة بين درجة التعبير عن EGF وكل من درجة الخبث النسيجية ، و وعدد الخلايا المشمولة بالخبث : فعندما يكون الورم من الدرجة الأولى تكون الخلايا المشمولة بالإيجابية في أعلى نسبة لها 32 % عند درجة التعبير عن EGF (+++) ،بينما عندما يكون الورم من الدرجة الثالثة تزداد الخلايا المشمولة بالإيجابية لتصل إلى نسبة 50 % عند نفس الدرجة من التعبير عن EGF وهي (+++) .

وجدنا زيادة عدد الخلايا المشمولة بالخبث مع ازدياد درجة التعبير عن EGF في ++ و +++ . نتفق في ذلك مع الدراسات السابقة التي تؤكد أن EGF كان موجوداً بشكل كبير في OSCC [142،148،149،150]، وكان التفاعل إيجابياً في كل من الغشاء الخلوي وسيتوبلاسما خلايا أغلب السرطانات شائكة الخلايا الفموية ، و أنّ وجود EGFR مفرطاً في الأورام سيئة التمايز ، أي الأورام ذات الدرجة الثالثة والرابعة لأنها تحوي نسبة أعلى من علائم اللانموذجية الخلوية ، مع نقص في الأداء الوظيفي للخلايا البشروية [128]

يعود سبب ذلك إلى ما ذكرناه سابقاً ، عن دور EGF في بدء السرطان ، و لا يقتصر دوره فقط في المراحل المبكرة من التكون الورمي ، إنما أيضاً يتعدى ذلك إلى التحريض على تطور وترقي السرطان داخل الجسم و تشكيل أوعية دموية جديدة ، وإحداث الغزو و النقائل [122].

عندما نتحدث عن إيجابية EGF (+++)، نكون هنا أمام كمية كبيرة منEGF في كل الطبقات النسيجية للبشرات المخاطية السرطانية ،وبالتالي ارتباط أكبر له مع المستقبل EGFR أي تفعيل لآلية البروتين كيناز داخل الخلوي ، وإثارة لشلال الإشارة بدءً من الهيولي لينتقل إلى النواة عبر طريق RAS ،هذا يعني مرحلة متطورة جداً من السرطان الفموي القليل التمايز ،الذي يكون غالباً من الدرجة الثالثة ، و يصعب فيه تحديد المنشأ النسيجي للخلايا ، لكثرة علائم الخبث الخلوي، وابتعاد كبير للخلايا عن شكلها الأصلي ، حيث يكون من ½ إلى ¾ ، أوأكثر من ¾ خلايا العينة مبدية لعلائم الخبث

إذاً يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF وكل من عدد الخلايا المشمولة بالخبث و درجة الورم النسيجية.

وجدنا في بحثنا أن 34.3% من العينات كانت تحوي رشاحة التهابية بؤرية من الخلايا اللمفية و المصورية ، و 34.3% من العينات كانت تحوي رشاحة التهابية شاملة ، و 31.4% من العينات لا تحوي التهاب . شملت إيجابية EGF(+++) أعلى نسبة من العينات 33% ،50% على التوالي عندما كان الالتهاب بؤرياً و شاملاً . نتفق في ذلك مع الدراسات السابقة التي

وجدت أن اللحمة الضامة للسرطان ترتشح غالباً برشاحة التهابية من الخلايا اللمفية والمصورية (153،65،19)

ربما تعتبرهذه الرشاحة الالتهابية رشاحة مناعية ، وليست التهاباً حقيقياً ناجماً عن خلل في وظيفة الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة CD4 الذي يحدث في المراحل المتقدمة من Oscc ، [35]، لأن الالتهاب المزمن الحقيقي يجب أن يترافق مع المظاهر النسيجية الأخرى للالتهاب المزمن و هي تكاثر و نشاط للخلايا مصورة الليف و الخلايا المبطنة للأوعية الدموية ، لذلك تعتبر هذه الرشاحة الالتهابية مناعية التشكل ، تتجمع حول الخلايا البشروية السرطانية كارتكاس مناعي تجاه التغيرات الحاصلة على غشاء هذه الخلايا ، أي أنها تعرفت على المستضدات الغريبة و بدأت بمهاجمتها ، وهذا يحصل في السرطانات من الدرجة الأولى قليلة الخبث ، حيث لم تتمكن الخلايا السرطانية بعد من تطوير آليات معينة ، أو إفراز عومل سامة تلجم عمل الجهاز المناعي [113-149] .

يفرز الالتهاب العديد من الوسائط ، التي تحرض على تكاثر الخلايا البشروية ، فيآزر بذلك عمل EGF الذي يحرض على التكاثر الخلوي أيضاً . لذلك نجد أن هناك علاقة ارتباط طردي بين درجة التعبير عن EGF ووجود الرشاحة الالتهابية .

وجدنا في بحثنا أن جميع حالات المرضى بعمر تحت 40 سنة(الأعمار الفتية) كانوا إيجابيين EGF (+++)، وأنّ 80% من المرضى سلبيي EGF هم من الأعمار فوق 50 سنة . وبذلك نرى أن سرطانات الأعمار الفتية تكون أكثر خباثةً من سرطانات الأعمار المتقدمة .

لم أجد دراسات سابقة درست العلاقة بين درجة التعبير عن EGF و الفئة العمرية للمريض لكن أعتقد أن سبب كون جميع الأعمار الفتية إيجابية EGF (+++)، هو أن سرطانات الأعمار الفتية غالبا تكون من الأنواع شديدة الخبث ، درجة ثالثة ، أي أنها تحوي نسبة عالية من EGF [109،113]، مما سيزيد من فعالية ارتباطه على مستقبله ، و يكون سبباً في ترقي الورم نحو الأسوء . أما عن تركز إيجابية EGF في الفئة العمرية فوق 50 سنة ، فربما يعود إلى أن أغلب حالات OSCC تصيب الأعمار المتقدمة فوق 40 سنة [12،21] .

من جهة أخرى وجدنا أن هناك علاقة ارتباط ذات دلالة احصائية بين درجة التعبير عن EGF ومكان الإصابة ، فلقد أبدت الخلايا في سرطان الشفة سلبية أوإيجابية منخفضة (+) بنسبة53.30 % ، بينما أبدت الخلايا في سرطان اللسان و قاع الفم ، و دهليز الفم وباطن الخد ، واللثة والسنخ درجة إيجابية EGF من الدرجة (++) و (+++) . لذلك أرى واعتماداً على درجة التعبير عن EGF أنّ سرطانات اللسان وقاع الفم أكثر خطورة وخبثاً من سرطان الشفة أو قبة الحنك ، ولم أجد أبحاث سابقة درست العلاقة بين درجة التعبير عن EGF ومكان الإصابة

. لكن هناك مراجع تتحدث أنّ نفس النتيجة سرطانات اللسان وقاع الفم هي أكثر الحالات شيوعاً REGEZI [12] Neville [19] وCawson [33].

الباب الخامس : الاستنتاجات
Conclosions

في حدود هذه الدراسة نستنتج

١. يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF وكل من عدد الخلايا المشمولة بالخبث و درجة الورسم النسيجية.
٢ . يوجد علاقة ارتباط طردية بين درجة التعبير عن EGF ووجود الرشاحة الالتهابية .
٣. يوجدعلاقة ارتباط عكسية بين درجة التعبير عن EGF ووجود كرات التقرن المعكوس
٤. سرطانات الأعمار الفتية تكون أكثر خباثةً من سرطانات الأعمار المتقدمة .
٥. معظم حالات OSCC هي سرطانات عالية أو معتدلة التمايز ، فهي تقوم بتصنيع القرنين على شكل كرات تقرن معكوس
٦. سرطانات اللسان وقاع الفم أكثر خطورة وخبثاً من سرطان الشفة أو قبة الحنك

الباب السادس : المقترحات و التوصيات
Suggestions and Recommendations

١. أقترح إدراج درجة التعبير عن EGF كأحد العوامل المهمة في تحديد درجة الخبث .
٢. ضرورة متابعة إجراء دراسات بحثية عن استعمال حاصرات و مثبطات لمستقبل عامل النمو البشروي في علاج OSCC يرافق العلاج التقليدي للسرطان ، لما له من دور كبير في التعرف على آلية التسرطن ، وعلاج السرطان .
٣. ضرورة إجراء دراسات و بحوث علمية على المستوى المورثي والجزيئي للسرطان
٤. للوصول إلى معرفة أعمق لآلية التسرطن التي ما تزال غامضة ومعقدة غم كل الدراسات السابقة التي أجريت
٥. إجراء التلوين المناعي للسرطان البشروي شائك الخلايا ضرورة ملحة ، لأن التلوين التقليدي بملوني الهيماتوكسلين و الإيوزين يعتبر غير كافياً لأنه لا يعبر عن مدى الخلل المورثي الحاصل في خلايا السرطان .
٦. أوصي زملائي أطباء الأسنان بضرورة إجراء فحص سريري شامل للفم ، وعدم التأخر في اللجوء إلى إجراء خزعة للآفات التقرحية المعندة التي يشك بها ، لأن الكشف المبكر للآفات السرطانية يحسن الإنذار و يجعل العلاج ممكناً .

الباب السابع : المراجع
References

1- David Hyde , Introduction to Genetic Principges , chapter 1,2,3,7,8,9,10,11,12,22 McGraw –Hill **.** 2009.USA.

2- Feuerstein Michael . Handbook of Cancer Survivorship. PART 1: BUDEN ,2007 springer .com ,LLC. USA.

3- Kumar Vinay , Abul K . Abbas , Nelson Fausto ,& Richard Mitchell. Robbins Basic Pathology , ISBN: 9781416029731 . Copyright 2007 , Elsevier Inc .

4- Boring C. Squirest., Tong T. Cancer Statistics , 1992. C A 42:21, 1992.

5– Weinberg MA, Estefan DJ . Assessing oral malignancies . Am Fam Physician 2002 Apr 1;65(7):1379-84 Related Articles, Books, LinkOut .

6– Casiglia J, Woo SB .A comprehensive review of oral cancer. Gen Dent 2001 Jan-Feb;49(1):72-82.

7- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estinates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. Int cancer 1999,80: 822-841.

8 - Ewonwa CO, Meeks VI . Bionurition and oral cancer in humans J1 nt Rev Oral Biol Med 1995 , 6 : 5- 17

9- American Cancer Society . Cancer fact & figures – 1997 . Atlanta Ga , American Cancer Society , PP1-23 , 1997.

10- Woolgar JA , Scott J, Vaughan ED , Brown JS , West CR, Rogers S . Survival, metastasis and recurrence of oral cancer in relation to pathological features. Ann R Coll Surg Engl 1995 ; 77: 325- 31 .

11- Scully C, Bedi R. Ethnicity and oral cancer . Lancet Oncol 2000 Sep;1(1):37-42 .

12- REGEZI , SCIUBBA , Jordan . Oral Pathology –Clinical – Pathologic Correlation . chapter 2 , Neoplasms . SAUNDERS Elsevier , 5th Edition 2008 .52,60,70,72.

13- Sankuranarayanan R. Oral cancer in India: Anepidemiologic and clinical review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 69: 325- 330, 1990.

14- Leon Barnes , John W . Eveson , Peter Reichart ,David Sidransky . Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours ,

World Health Organization Classification of Tumours . International Agency for Research on Cancer (IARC) , IARCpress :Lyon , WHO OMS . 2005 . .15-18, 168-176.
15- Ajarim D.S. cancer at king Khalid University Hospital Riyadh . Ann of Saudi Med , vol 12 N .1.1992.
16- Tandon P.& all . Cancer in the Gizan Province of Saudi Arabia : an eleven year study . Annual of Saudi Medicine vol 15,No 1 ,1995.
17- Al-Balawi SA, Nwoku AL. Management of oral cancer in a tertiary care hospital . Saudi Med J 2002 Feb;23(2):156-9 .
18- Silverman S JR. Gorsky M. Epidemiologic and demographic update in oral cancer: California and national data- 1973 to 1985. J Am Dent Assoc 120: 495- 499, 1990..
19- Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and Maxillofacial Pathology. Philadelphia 1995 W.B Saunders, 280-305, 572-576 .
20- Haya Fernandez MC, Bagan Sebastian JV, Basterra Alegria J, Lloria de Miguel E. [Prevalence of oral lichen planus and oral leukoplakia in 112 patients with oral squamous cell carcinoma] .Acta Otorrinolaringol Esp. 2001 Apr;52(3):239-43.
21- Ewonwa CO, Meeks VI . Bionurition and oral cancer in humans J1 nt Rev Oral Biol Med 1995 , 6 : 5- 17
22- Sellers S.L .Epide Miology Of Oral Cancer . Otolaryngol Clin N Am 12:45-55;1979 .
23- Silverman S . Oral Cancer . 3rd ed .Atlanta :American cancer Society , 1990
24- Kuo WP, Hasina R, Ohno-Machado L, Lingen MW. Classification and identification of genes associated with oral cancer based on gene expression profiles. A preliminary study. N Y State Dent J 2003 Feb;69(2):23-6 .
25- DAKO A/S. Uncompramising reability in diagnostic catalogue. Copenhagen, March 2003.
26- Sciubba JJ. Oral precancer and cancer: etiology, clinical presentation, diagnosis, and management. Compend Contin Educ Dent 2000 Oct;21(10A):892-8, 900-2; quiz 903 .
27- Raval GN, Patel DD, Parekh LJ, Patel JB, Shah MH, Patel PS. Evaluation of serum sialic acid, sialyltransferase and sialoproteins in oral cavity cancer. Oral Dis. 2003 May;9(3):119-28.
28- Alshatty M , Alssalem SH,et al . General Pathology .The book of Medecine Fcultiy . Damascus University . 2009. Chapter 14 : Tumors

29- Hirshberg A, Leibovich P, Buchner A. Metastasis of the oral mucosa: analysis of 157 cases. J oral Pathol Med. 1993; 22: 385-90.
30- Thomson PJ.Field change and oral cancer: new evidence for widespread carcinogenesis? Int J Oral Maxillofac Surg. 2002 Jun;31(3): 262-6.
31- Greenberg JS, Fowler R, Gomez J, Mo V, Roberts D, El Naggar AK, Myers JN. Extent of extracapsular spread: a critical prognosticator in oral tongue cancer. Cancer 2003 Mar 15;97(6):1464-70.
32- Sapp J.P.,L. R.Eversole ,G.P.Wyscoki . Contemporary Oral And Maxillofacial Pathology, 1997 Mosby, p112-113..
33- Cawson RA, Binnie WH, Speight PM. Lucas's Pathology Of Tumors Of The Oral Tissues. Fifth Edition 1998, Churchill Livingstone.
34-Cawson R.A. ,E.W. Odell .Oral pathology & Oral medicine , Elesevier , 8th edition , 2002 .p.1 -16, 227-234 .
35- Agarwal A, Rani M, Saha GK, Valarmathi TM, Bahadur S, Mohanti BK, Das SN. Disregulated expression of the Th2 cytokine gene in patients with intraoral squamous cell carcinoma. Immunol Invest 2003 Feb;32(1-2):17-30.
36- Kramer IRH ,E1-Laban N ,Lee KW . The Clinical Features And Risk Of Malignant Transformation in Sublingual Keratosis .1978 Br Dent J 144 : 171-176.
37- Myers EN, Suen JY. Cancer Of The Head And Neck, Third Edition 1996 by W.B. Sauders Company .
38- Booth P , Schendels , Hausamen J .Maxillofacial Surgery VO.1 USA 1999 by Churchill Livingstone .
39- Cawson RA, Binnie WH, Burrett AW, Wright JM. ORAL DISEASE, third edition, 2001 by Mosby.
40- Van Heerden WF, Butow KW. The role of the dentist in the prevention and early diagnosis of oral cancer. SADJ. 2002 Jan;57(1):22-4.
41- Ariyoshi Y, Shimahara M . The utility of helical computed tomography Tooth Pix and a 3-dimensional life-size model for treatment of squamous cell carcinoma of the mandible: a case report . J Oral Maxillofac Surg 2002 May;60(5):592-6.
42- Gellrich NC, Suarez-Cunqueiro MM, Bremerich A, Schramm A. Characteristics of oral cancer in a central European population: defining the dentist's role. J Am Dent Assoc 2003 Mar;134(3):307-14.

43- Reichart PA. Identification of risk groups for oral precancer and cancer and preventive measures. Clin Oral Investig. 2001 Dec;5(4):207-13.
44- Ganiff J P, Harvey W, harris M . Oral submucous fibrosis: its pathogenesis and management, Br Dent J 160:429-434 ,1997 .
45- Chung S . Yang , Saranjit K . Chhabra , Jyn –Yan Hong , et al . Mechanisms of Inhibition of Chemical Toxicity and Carcinogenesis by Dially Sulf ide (DAS) and Related Compounds from Garlic . J.Nutrition . 2001; 131: 1041S-1045S . The American Society for Nutritional Sciences .
46- Camacho LH. Clinical applications of retinoids in cancer medicine.
J Biol Regul Homeost Agents. 2003 Jan-Mar;17(1):98-114.
47- Gorsky M, Epstein JB. The effect of retinoids on premalignant oral lesions: focus on topical therapy. Cancer. 2002 Sep 15;95(6):1258-64.
48- Schwartz J, Shklar G, Trickler D. p53 in the anticancer mechanism of vitamin E. Eur J Cancer B Oral Oncol 1993 Oct;29B(4):313-8 .
49- Zhang Z, Qiu W. Craniofacial Resection of Advanced Oral and Maxillofacial of Malignant Tumors.Chin Med J(Engl).2003:116(1): 134-7.
50- Shingaki S, Takada M, Sasai K, Bibi R, Kobayashi T, Nomura T, Saito C. Impact of lymph node metastasis on the pattern of failure and survival in oral carcinomas. Am J Surg 2003 Mar;185(3):278-84.
51- Hirshberg A, Calderon S, Kaplan I. [Update review on prevention and early diagnosis in oral cancer] . Refuat Hapeh Vehashinayim. 2002 Jul;19(3):38-48, 89.
52- National Cancer Institute. Cancer statistic review, 1873- 1987- Bethesda, Mary Land: US . Department of Health and Human Services. Public Health Service; 1990: NIH. Publication no. (PHS) 90- 2789.
53- Alvarez Lorenzo M, Blanco Carrion A, Antunez Lopez J, Gandara Vila P, Garcia Garcia A, Gandara Rey JM. [Ultrastructural differences between leukoplakia with and without dysplasia] . Bull Group Int Rech Sci Stomatol J.Odontol. 2001 May-Sep; 43(2):37-45.
54- Silverman S Griffith M . smoking characteristics of patiants with oral carcinoma and the risk low second oral primary arcinoma. J AM Dent Assoc 85 : 637-640, 1972.

55- Banoczy J, Squier CA, Kremer M, Wertz PW, Kovesi G, Szende B, Dombi C. The permeability of oral leukoplakia. Eur J Oral Sci. 2003 Aug;111(4):312-5.
56- Chen YK, Lin LM. Immunohistochemical expression of inducible nitric oxide synthase in DMBA-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. Oral Oncol 2000 Mar;36(2):221-4
57- Enzinger F M , weises SW, Soft Tissue Tumors . Third edition, mosby, 1995.
58- Tandon P. . Cancer in the Gizan Province of Saudi Arabia: an eleven year study. Annual of Saudi Medicine vol 15, No.1, 1995.
59- Kramer IRH ,E1-Laban N ,Lee KW . The Clinical Features And Risk Of Malignant Transformation in Sublingual Keratosis .1978 Br Dent J 144 : 171-176.
60- Thomas G, Hashibe M, Jacob BJ, Ramadas K, Mathew B, Sankaranarayanan R, Zhang ZF. Risk factors for multiple oral premalignant lesions. Int J Cancer. 2003 Nov 1;107(2):285-91.
61- Rajkumar T, Sridhar H, Balaram P, Vaccarella S, Gajalakshmi V, Nandakumar A, Ramdas K, Jayshree R, Munoz N, Herrero R, Franceschi S, Weiderpass E. Oral cancer in Southern India : the influence of body size, diet, infections and sexual practices. Eur J Cancer Prev 2003 Apr;12(2):135-43.
62- National Cancer Institute. Cancer statistic review, 1873- 1987- Bethesda, Mary Land: US . Department of Health and Human Services. Public Health Service; 1990: NIH. Publication no. (PHS) 90- 2789.
Edition 1983 by W.B. Saunders Company.
63–G .Campisi , V.Margiotta . Oral mucosal lesions and risk habits among men in an Italian .J . Oral pathol Med .2003: 32, 1 0904 – 2512 .
64- Shafer WG, Hine MK, Lery BM. A Text book of oral Pathology Fourth Edition 1983 by W.B. Saunders Company
65- Yarden Y . The EGFR family and its ligands in hyman cancer : signaling mechanisms and the therapeutic opportunities Eur .J. Cancer . 37, S3-S8 . 2001 .
66- Gielkens PF, de Visscher JG, van der Waal I. [A white lesion of the oral mucosa: leukoplakia?] Ned Tijdschr Geneeskd. 2003 Nov 8;147(45):2197-201.
67- Smirnova T, Adomako A, Locker J, Van Rooijen N, Prystowsky MB,In vivo invasion of head and neck squamous cell carcinoma cells does not require macrophages , Albert Einstein College of Medicine, :, New York, USA, 2011 Jun;178(6):2857.

68- Eugene N .Myers , James Y . Suen , et al . CANCER of the HEAD and NECK , Chapter 2-3-4-5-13-32-33-34 . Elsevier Science k , 4th Edition, 2003 , USA .
69- Demopoulos BP, Vamvakas E, Ehrlich JE, Demopoulos R. Non-acquired immunodeficiency syndrome-defining malignancies in patients infected with human immunodeficiency virus. Arch Pathol Lab Med 2003 May;127(5):589-92.
70- Scully C . Oral squamous cell carcinoma; from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission . Oral Oncol 2002 Apr;38(3):227-34 .
71- Bureau A, Shiboski S, Hughes JP. Applications of continuous time hidden Markov models to the study of misclassified disease outcomes.Stat Med. 2003 Feb 15;22(3):441-62.
72- Giovannelli L, Campisi G, Lama A, Giambalvo O, Osborn J, Margiotta V, Ammatuna P. Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions . J Infect Dis 2002 Mar 15;185(6):833-6 .
73- Ha PK, Pai SI, Westra WH, Gillison ML, Tong BC, Sidransky D, Califano JA . Real-time quantitative PCR demonstrates low prevalence of human papillomavirus type 16 in premalignant and malignant lesions of the oral cavity . Clin Cancer Res 2002 May;8(5):1203-9 .
74- Ostwald C, Rutsatz K, Schweder J, Schmidt W, Gundlach K, Barten M. Human papillomavirus 6/11, 16 and 18 in oral carcinomas and benign oral lesions. Med Microbiol Immunol (Berl). 2003 Aug;192(3):145-8. Epub 2002 Nov 01.
75- Higa M, Kinjo T, Kamiyama K, Iwamasa T, Hamada T, Iyama K . Epstein-Barr virus (EBV) subtype in EBV related oral squamous cell carcinoma in Okinawa, a subtropical island in southern Japan, compared with Kitakyushu and Kumamoto in mainland Japan . J Clin Pathol 2002 Jun;55(6):414-23 .
76- Murray Robert K , et al , Harper s Biochemistry chapter 37-38-39-62 , 25th Edition , Mc Graw – Hill, USA , 2000 .
77- Sturgis EM, Wei Q. Genetic susceptibility-molecular epidemiology of head and neck : Curr cancer . Opin Oncol 2002 May;14(3):310-7.
78- Shafer WG, Hine MK, Lery BM. A Text book of oral Pathology Fourth Edition 1983 by W.B. Saunders Company.
79- Carvalho JP, Dias ML, Carvalho FM, Del Pilar Estevez Diz M, Petito JW . Squamous cell vulvar carcinoma associated with Fanconi's anemia: a case report . Int J Gynecol Cancer 2002 Mar-Apr;12(2):220-2 .

80- Malcolm R . Alison , Robert Weinberg , et al The Cancer Handbook . Section A – The Molecular Basis of cell and Tissue Organization . Published by npg . 2003 .
81- Myoung H, Hong SP, Yun PY, Lee JH, Kim MJ. Anti-cancer effect of genistein in oral squamous cell carcinoma with respect . Cancer Sci 2003 Feb;94(2):215-20 .
82- Sakaki T, Tamura I, Kadota H, Kakudo K. Changing expression of E- and P-cadherin during rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. J Oral Pathol Med. 2003 Oct;32(9):530-7.
83- Yao H, Wu B, Wu Q. [Study and detection of telomerase activity in oral squamous cell carcinomas and precancerous lesions] . Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 1999 Nov;34(6):328-30.
84- Shintani S, Mihara M, Nakahara Y, Kiyota A, Ueyama Y, Matsumura T, Wong DT. Expression of cell cycle control proteins in normal epithelium, premalignant and malignant lesions of oral cavity . Oral Oncol 2002 Apr;38(3):235-43 .
85- Gronau S, Koenig-Greger D, Jerg M, Riechelmann H.
GSTM1 enzyme concentration and enzyme activity in correlation to the genotype of detoxification enzymes in squamous cell carcinoma of the oral cavity. Oral Dis 2003 Mar;9(2):62-7.
86- Yonekura N, Yokota S, Yonekura K, Dehari H, Arata S, Kohama G, Fujii N. Interferon-gamma downregulates Hsp27 expression and suppresses the negative regulation of cell death in oral squamous cell carcinoma lines. Cell Death Differ 2003 Mar;10(3):313-22 .
87- Kyriazanos ID, Tachibana M, Dhar DK, Shibakita M, Ono T, Kohno H, Nagasue N . Expression and prognostic significance of S100A2 protein in squamous cell carcinoma of the esophagus. Oncol Rep 2002 May-Jun;9(3):503-10 .
88- Nagpal JK, Mishra R, Das BR . Activation of Stat-3 as one of the early events in tobacco chewing-mediated oral carcinogenesis . Cancer 2002 May 1;94(9):2393-400 .
89- Alsalty M ,et al . Cytology . The book of Medecine Fcultiy . Damascus University . 2006.
90- Outhman A, Alhajaj M . Gentic science . The book of Medecine cce. Damascus University . 2006
91- Huang Q, Yu GP, McCormick SA, Mo J, Datta B, Mahimkar M, Lazarus P, Schaffer AA, Desper R, Schantz SP . Genetic differences detected by comparative genomic hybridization in head

and neck squamous cell carcinomas from different tumor sites: construction of oncogenetic trees for tumor progression . Genes Chromosomes Cancer 2002 Jun;34(2):224-33.
92- Viswanathan M, Sangiliyandi G, Vinod SS, Mohanprasad BK, Shanmugam G. Genomic Instability and Tumor-specific Alterations in Oral Squamous Cell Carcinomas Assessed by Inter- (Simple Sequence Repeat) PCR. Clin Cancer Res 2003 Mar;9(3):1057-62 .
93- Iwasa M, Imamura Y, Noriki S, Nishi Y, Kato H, Fukuda M. Immunohistochemical detection of early-stage carcinogenesis of oral leukoplakia by increased DNA-instability and various malignancy markers. Eur J Histochem. 2001;45(4):333-46.
94- Hsia JY, Chen CY, Hsu CP, Shai SE, Yang SS, Chuang CY, Wang PY, Chen JT . Expression of apoptosis-regulating proteins p53, Bcl-2, and Bax in primary resected esophageal squamous cell carcinoma . Neoplasma 2001;48(6):483-8
95- Dabrowski A, Brajerski G, Wallner G, Ziemiakowicz R . p35 protein as a prognostic factor of squamous cell carcinoma of the oesophagus . Ann Univ Mariae Curie Sklodowska [Med] 2001;56:69-75 .
96- Yang Y, Zhou H, Zhou M, Liu Y, He Z, Li B. [The age-related changes of P53 protein expression in oral mucosa and their effects on oral leukoplakia] . Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2003 Jul;34(3):513-5, 564.
97-Mahmoud R .Hussein , Alterations of p53 and Bcl-2 Protein Expression in the Laryngeal Intraepithelial Neoplasia .J. Cancer biology &therapy , Vol :4 ,February 2005 .
98- Oral Oncol. 2012 May;48(5):383-92. Epub 2012 Jan 11. Ras oncogenes in oral cancer: the past 20 years. Murugan AK, Munirajan AK, Tsuchida N.
99- Hum Pathol. 2012 Sep 28. pii: S0046-8177(12)00226-2. doi: 10.1016/j.humpath.2012.06.007. [Epub ahead of print]
Four-protein signature accurately predicts lymph node metastasis and survival in oral squamous cell carcinoma.
100- Zanaruddin SN, Saleh A, Yang YH, Hamid S, Mustafa WM, Khairul Bariah AA, Zain RB, Lau SH, Cheong SC. Biol Pharm Bull. 2012;35(3):289-300.
Kalopanaxsaponin A inhibits the invasion of human oral squamous cell carcinoma by reducing metalloproteinase-9 mRNA stability and protein trafficking. Hwang YS, Park KK, Chung WY.
101- Kim ES, Kies M, Herbst RS . Novel therapeutics for head and neck cancer . Curr Opin Oncol 2002 May;14(3):334-42 .

102- Saito H, Tsujitani S, Oka S, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N . The Expression of Murine Double Minute 2 Is a Favorable Prognostic Marker in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Without p53 Protein Accumulation . Ann Surg Oncol 2002 Jun-Jul;9(5):450-6 .
103- Piattelli A, Rubini C, Fioroni M, Iezzi G, Santinelli A . Prevalence of p53, bcl-2, and Ki-67 immunoreactivity and of apoptosis in normal oral epithelium and in premalignant and malignant lesions of the oral cavity. J Oral Maxillofac Surg 2002 May;60(5):532-40.
104- Pomp J, Blom J, Linthorst M, Zwinderman AH, van Krimpen C . The influence of pre-operative radiotherapy on the expression of p53 and adhesion molecules: Correlation with treatment results in-patients with squamous cell carcinoma or adenocarcinoma. Oncol Rep 2002 May-Jun;9(3):621-5 .
105- Guan W, Yu S, Gao Y . [Expression of apoptosis-related protein in epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma . . Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 2002 Jan;37(1):65-8 .
106- Nogami T, Kuyama K, Yamamoto H. Histopathological and immunohistochemical study of malignant transformation of oral leukoplakia, with special reference to apoptosis-related gene products and proliferative activity. Acta Otolaryngol. 2003 Aug;123(6):767-75.
107- Yeh KT, Chang JG, Lin TH, Wang YF, Tien N, Chang JY, Chen JC, Shih MC. Epigenetic changes of tumor suppressor genes, P15, P16, VHL and P53 in oral cancer. Oncol Rep 2003 May-Jun;10(3):659-63 .
108- Tsuzuki H, Fujieda S, Sunaga H, Narita N, Tokuriki M, Saito H. Expression of p27 and apoptosis in oral leukoplakia. Anticancer Res. 2003 Mar- Apr;23(2B):1265-70.
109-Claudie Hooper .EGFR interactions roles and cancer therapy options. 1998-2010 Abcam plc .Kings College London , Denmark Hill ,London.
110- Thomas D . Pollard , C . Earnshaw , et al CELL BIOLOGY . Capter12- 17 . SAUNDERS Elsevier , 5th edition 2005 .
111- Jeffery H . Albrecht and Linda K . Hansen . Cyclin D1 Promotes Mitogen – independwnt Cell Cycle Progression in Hepatocytes Cell Growth & Differentiation Vol . 10 , June 1999 . American Association for Cancer Research .

112- Leunq k , Y-CH –A"-diethylenetriamine pentaacetic acid-panitumumab , National Center for Biotechnology Information (US); 2011 Aug 25 [updated 2011 Dec 08.
113- Dawson JC, Timpson P, Kalna G, Machesky LM , Mtss1 regulates epidermal growth factor signaling in head and neck squamous carcinoma cells, , Beatson Institute for Cancer Research: Glasgow, Scotland, UK; 2012 Apr 5;31(14):1781-93
114-Yoon HJ, Hong JS, et al , The role of Cripto-1 in the tumorigenesis and progression of oral squamous cell carcinoma**,** Department of Oral Pathology**,** Seoul National University**:** Republic of Korea, 2011 Nov;47(11):1023-31.
115- Leung K, ^{64}Cu-1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-*N*, tetraacetic acid-panitumumab**,** National Center for Biotechnology Information (US); 2010 Jun 25 [updated 2010 Sep 30].
116- Barakat SH , Histologic,histochemic,and immunohistochemic comparative study between normal& precancerousoral mucosa . Ph.D research .Dentist Faculty. Damascus University .2004-2005 :33.
117- Addas A , Comparative study between cell cycle controls and epidermal growth , Ph.D research . Dentist Faculty, Damascus University . 2010 : 25,30,47,50,52,119 .
118- Madar S Sylvia , et al , Biology Chapter 1,2 9th edition , ROW –HILL. USA . 2007 .
119- Hawash F,Alkhaiear H, Alhafez R . Oral Histology , student book .Dentist Faculty.Damascus University .2008 .
120- Hawash F,AlkHaiear H. General Pathology . maldevelopment , Chapter 5. Faculty of Dentistry . Damascus University .
121- Pickhard AC, Margraf J, et al , Inhibition of radiation induced migration of human head and neck squamous cell arcinomacells by blocking of EGF receptor pathways**,** Department of otolaryngology ,Technical University of Munich : , Germany, 2011 Sep 6;11:388.
122- Ohshima M, Sato M, Ishikawa M, Maeno M, Otsuka K . Physiologic levels of epidermal growth factor in saliva stimulate cell migration of an oral epithelial cell line, HO-1-N-1 . Eur J Oral Sci 2002 Apr;110(2):130-6 .
123- Harri PM .Epidermal Growth Factor Receptor Inhibition strategies in oncology (review) .Endocer Relat Cancer 2004;11:689-708: 21-24 .
124- Grecula JC , Schuller DE ,Smith R , Rhoades CA , Nag S , Bauer CJ , etv al . Longterm follow –up on an intensified treatment

regimen for advanced respectable head and neck Squamous cell carcinoma . Division of Radiation Oncology , Columbus , OH 43210 , USA . Cancer Invest 2001 ; 19 (2) : 127-36 .
125- Asnaghi L , Bruno P , Priulla M , Nicolin A . Mtor : a protein kinase switching between life and death . Pharmacol . Res . 2004 .
126- Bazelga LA , et al . The Epidermal Growth Factor Receptor family (review) . Endocr Relate Cancer 2005 ; 1: S17 -28 .
127- Helmut Bartsch , Margarita Rojas , Urmila Nair , Jagadeesan Nair , and Kroum Alexandrov . Genetic Cancer Susceptibility and DNA Adducts : Studies in Smokers , Tobacco Chewers , and Coke Oven Workers , J. Cancer Detection and Prevention 1999 ; 23(6) : 445 – 453 .
128- Shigeishi H, Higashikawa K,Hiraoka M . Expression of epiregulin , a novel EGFR ligand associated with prognosis in human oral squamous cell carcinoma . Hiroshima University , Japan . 2008 Jun ; 19(6) :1557-64 .
129- Lit , Wen H , Brayton C , Das P, Smithson LA,et al .EGFR and notch pathways participate in the tumor suppressor function of gamma secretase .The Johns Hopkins University ,Baltimore , USA . 2007 Nov 2; 282(44) :32264 -73 .
130- I Chiba , Y Yamazaki , M Muthumala , Characteristics of genetic abnormalities of oral cancers in Sri Lanka and Japan , J . Cancer Detection and Prevention 1998 ; 22(1) .
131- Iamaroon A, Pongsiriwet S, Jittidecharaks S, Pattanaporn K, Prapayasatok S, Wanachantararak S. Increase of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2003 Apr;32(4):195-9.
132– Lenczewski A, Terlikowski SJ, Sulkowska M, Famulski W, Sulkowski S, Kulikowski M . Prognostic significance of CD34 expression in early cervical squamous cell carcinoma .Folia Histochem Cytobiol 2002;40(2):205-6 .
133- Ranieri G, Labriola A, Achille G, Florio G, Zito AF, Grammatica L, Paradiso A. Microvessel density, mast cell density and thymidine phosphorylase expression in oral squamous carcinoma. . Int J Oncol. 2002 Dec;21(6):1317-23 .
134- Shemirani B, Crowe DL . Hypoxic induction of HIF-1alpha and VEGF expression in head and neck squamous cell carcinoma lines is mediated by stress activated protein kinases . Oral Oncol 2002 Apr;38(3):251-7 .

135- Bernardes VF, et al , EGF in saliva and tumor samples of oral squamous cell carcinoma **,** Department of Oral Surgery and Pathology, School of Dentistry**:** Brazil , 2011 Dec;19(6):528-33.
136 - Singh B , Schneider M, Knyazev P, Ullrich A . UV-induced EGFR signal transactivation is dependent on proligand shedding by activated metalloproteases in cancer cell lhnes . Department of Molecular Biology , Martinsried ,Germany ,2009, Feb;1124(3): 531-9 .
137- Diamond ME ,Sun L, Ottavino AJ, Joseph MJ, Munshi HG. Differential groeth factor regulation of N-cadherin expression and motility in normal and malignant oral epithelium . Department of Medicine . Northwestern University .Chicago, IL 60611, USA.
138- Hatakeyama H, Cheng H, Wirth P,et al . Regulation of heparin-binding EGF-like growth factor by miR-212 and acquired cetuximab-resistance in head and neck squamous cell carcinoma , , Department of Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, United States of America , 2010 Sep 13;5(9):e12702.
139- Schmitz S, Machiels JP . Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck: relevance and therapeutic implications **,** , Department of Medical Oncology, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Belgium **,**
2010 Sep;10(9):1471-84 .
140- Hambek M, Werner C, Baghi M, Gstottner W,Knecht R . Enhancement of docetaxel efficacy in head and neck cancer treatment by G0 cell stimulation . University Clinic Frankfurt , Germany, 2007 , Jul ; 43(10): 1502-7 .
141- Guyton C . & et al , Medical Physiology & Mechanism of disease , Harcourt Asia , PTE ltd , 2001 .
142-Abhold EL,Kiang A, Rahimy E, Kuo ,et al , EGFR kinase promotes acquisition of stem cell-like properties: a potential therapeutic target in head and neck squamous cell carcinoma stem cells, Department of Surgery, University of California, San Diego, California, United States of America. 2012 Feb 27
143- Takaoka S, Iwase M, Uchida M, Yoshiba S, Kondo G , Watanabe H, Ohashi M . .Effect of combining epidermal growth factor receptor inhibitors and cisplatin on proliferation and apoptosis of oral squamous cell carcinoma cells . Oral and Maxillofacial Surgery. Japan , 2007 Jun;30(6):1469-76.
144- Lee EJ , Whang JH , Jean NK , Kim J . The epidermal groeth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa)

suppresses proliferation and invasion of human oral squamous carcinoma cells via p53 independent and MMP ,Upar dependent mechanism . Oral Pathology .Oral Cancer Research Institute .Yonsei University . Korea , 2007 , Jan ; 1095 :113-28 .

145 −Schütze C, Dörfler A, Eicheler W, Zips D, Hering S, Solca F, BaumannM .Combination of EGFR/HER2 Tyrosine Kinase Inhibition by BIBW 2992 and BIBW 2669 with Irradiation in FaDu Human Squamous Cell Carcinoma. University of Technology. Dresden. Germany, 2007 May;183(5):256-264

146- Rebucci M, Peixoto P, et al, Mechanisms underlying resistance to cetuximab in the HNSCC cell line: role of AKT inhibition in bypassing this resistance , Jean-Pierre Aubert Research Center: Lille, France, 2011 Jan;38(1):189-200.

147 - Specenier P, Vermorken JB, Cetuximab in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck, Department of Oncology, Antwerp University Hospital: Belgium, 2011 Apr;11(4):511-24.

148- Zuo JH, Zhu W, et al,Activation of EGFR promotes squamous carcinoma SCC10A cell migration and invasion via inducing EMT-like phenotype change and MMP 9 mediated degradationof E-cadherin,
Central South University :Changsha ,China, 2011 Sep;112(9):2508-17.

149- Hwang YS, Park KK, Chung WY, Invadopodia formation in oral squamous cell carcinoma: the role of epidermal growth factor receptor signalling **,** Oral Cancer Research Institute, Yonsei University College of Dentistry: Korea ,2012 Apr;57(4):335-43.

150- C. Torres castro, C.C.Esquivel chiringo ,and E. Leyva huerta . Immunodetection of EGFR in Squamous Cell Carcinoma in Mexican Patient . Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexeco,2007, March;

151-Diniz-Freitas M, García-Caballero T, Antúnez-López J. Pharmacodiagnostic evaluation of EGFR expression in oral squamous cell carcinoma . Oral Surgery Department . Santiago, Spain, 2007 May;13(3):285-90

152-Alkazaz M , Clinical histological study of the utility of using toluidine blue in early detection of cancerous and precancerous lesion in the oral cavity ,Master research , Dentist Faculty. amascus University .2004 .

153- Chang K. W , Lin S . Ch , Kwan P Ch , Wong y .k . Assosiation of aberrant P53 and P21 WAF1 immunoreactivity with

the outcome of oral verrucous leukoplakia in Taiwan .J . Oral Pathol Med 2000 : 29: 56-62 .

==========

ملخص البحث باللغة العربية

خلفية البحث وهدفه : السرطان هو كتلة خلوية تحررت من الآليات الطبيعية المنظمة لنمو الخلايا في العضويات الحية

تعتبر مورثة عامل النمو البشروي من المورثات الورمية المتورطة في إحداث سرطانات الرأس و العنق حيث تتحكم بالدورة الخلوية وتحرض كلاً من التكاثر البشروي و هجرة الخلايا البشروية .

الهدف من الدراسة : دراسة أهمية مورثة عامل النمو البشروي في التعرف على التغيرات النسيجية للسرطان الفموي البشروي شائك الخلايا ، للوصول إلى التشخيص التفريقي الصحيح ، و تحديد درجة الخبث بشكل دقيق .

مواد وطرائق البحث : شمل البحث 35 عينة ، 24 ذكور ، و 11 إناث ، تتراوح أعمارهم من 30 سنة وما فوق ، من المرضى الذين تمّت دراسة عيناتهم النسيجية التشخيصية في قسم النسج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان بجامعة دمشق والمشخص لديهم سرطان فموي بشروي شائك الخلايا ، شرط أن أن لايكون المريض قد خضع لعلاج شعاعي أو كيميائي قبل استئصال الآفة . وقد شملت هذه العينات درجات خبث متباينة .

تم تحضير العينات للدراسة النسيجية المناعية ، وقمنا بإجراء التلوين بالملون الكيميائي النسيجي المناعي(ضد بروتينات مورثة عامل النمو البشروي) ، كما تم تلوين جميع العينات بالملون التقليدي هيماتوكسلين & إيوزين . درست العلاقة بين درجة التعبير عن عامل النمو البشروي مع عدد من المعطيات النسيجية المميزة للـ OSCC . وتم استخدام اختبار Chi-Square واختبار Kendall's tau واختبار spearman في الدراسة الاحصائية عند مستوى دلالة $p < 0.05$.

النتائج : أظهرت نتائج بحثنا تلوناً إيجابياً بنسبة 86% من العيناتً لكاشف EGF ، وكانت أغلب الخلايا السرطانية التي تلونت بشكل جيد هي الخلايا الموجودة في محيط الجزر الورمية 74.3% .

زادت درجة التعبيرعن عامل النمو البشروي EGF تدرجاً من الايجابية الخفيفة + إلى الايجابية المتوسطة ++ إلى الايجابية الشديدة +++ عندما درست مع علائم الخبث الخلوي ووصلت إلى أعلى نسب وضوح النويات 50 % ، تعدد أشكال الخلايا 47 % ، اختلال نسبة الحجم بين النواة والهيولى Ratio 75 %، والانقسامات الشاذة 41 % عندما كانت درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (+++)، أما درجة الخبث النسيجية و وعدد الخلايا المشمولة بالخبث ، فعندما يكون الورم من الدرجة الأولى تكون الخلايا المشمولة بالإيجابية في أعلى نسبة

لها 32 % عند درجة التعبير عن EGF (+++) ،بينما عندما يكون الورم من الدرجة الثالثة تزداد الخلايا المشمولة بالإيجابية لتصل إلى نسبة 50 % عند نفس الدرجة من التعبير عن EGF وهي (+++) ، بينما بالمقابل تناقص وجود كرات التقرن لتصل إلى أقل نسبة 23% عندما تكون درجة التعبير عن عامل النمو البشروي EGF (+++) .

الاستنتاجات : بينت دراستنا وجود علاقة ارتباط طردية بين عامل النمو البشروي وكل من درجة الورم النسيجية ، وعدد الخلايا المشمولة بالخبث ، وعلائم الخبث الخلوي ، والالتهاب بينما كانت هناك علاقة ارتباط عكسية بين درجة التعبير عن EGF ووجود كرات التقرن المعكوس

الكلمات المفتاحية : عامل النمو البشروي ، مستقبل عامل النمو البشروي ، السرطان البشروي شائك الخلايا ، علائم الخبث الخلوي ، سرطان سيء التمايز ، سرطان عالي التمايز.

ملخص البحث باللغة الانكليزية

Abstract

Abstract Background : Epithelial growth factor was one of the tumor genes involved in causing head and neck cancer ,it had been implicated in the control of the cell cycle , cell proliferation , and Epithelial cells migration .

Epithelial growth factor receptor was commonly expressed highly in the cell membrane of normal and malignant epithelial cells

Research purpose : Immunohistochemical study to the relation between Epithelial growth factor and malignant degree of oral squamous cell carcinoma .

Material and method : The research smples consisted of 35 samples of patients had oral squamous cell carcinoma , (24 of them were males , and 11 were females) the middle age was 54 years old . they were taken from the Department of histology and pathology, at the Faculty of Dentistry, in Damascus University. it was necessary that patients didn't have any radial or chemical treatments before extraction of the lesion . we treated the Samples with Immunohistochemical staining . (monoclonal antibody against Epithelial growth factor) , which colored both of cell membrane , and the cytoplasm in cells of oral squamous cell carcinomas .We used Spearman's rho test , Kendall's tau-b test , and Chi- square test.

Results : Statistic analysis showed that over expression of Epithelial growth factor is correlated with the anaplasia , which reached higher levels in positive reaction +++ to Epithelial growth factor : clear nucleolus 50%, abnormal mitosis 75% , in adition when the expression of Epithelial growth factor increased , malignant degree of tumors increased too.(50% +++ in grade III).

While inversal keratin pearls decreased (23%+++) .

Conclusion : The results indicated that the expression of Epithelial growth factor increased with increased grade of malignancy , because there was a positive correlation between anaplasia and the expression of Epithelial growth factor. It had an obvious role as a starter and motivator to oral squamous cell carcinomas, and that wouldl be a further step toward the ultimate goal of individualized patient treatment .

Keywords : Epithelial growth factor , Epithelial growth factor receptor , oral squamous cell carcinoma , anaplasia , poor tumor differentiated squamous cell carcinoma , well tumor differentiated squamous cell carcinoma .