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

مقارنة درجة تعبير مشعر الانقسام"Ki-67" بين الآفات محتملة الخباثة والسرطانات شائكة الخلايا في الفم

(دراسة كيميائية مناعية نسيجية)

Compare the degree of expression to proliferation marker" Ki-67" in of precancerous lesions and squamous cell carcinomas in the mouth

(An immunohistochemical study)

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في علوم طب الاسنان
في اختصاص علم النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان

إعداد الباحث:

عامر بسام طقم

إشراف:

الأستاذ الدكتور: شريف بركات

استاذ في قسم علم النسج والتشريح المرضي الفَمَوي

كلية طب الأسنان – جامعة دمشق

2018


بسم الله الرحمن الرحيم

الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
رئيس الجامعة
-٩-
الرقم : ٩/٢٩٤٦

الموضوع : .....
التصنيف : .....

السيد الأستاذ الدكتور عميد كلية طب الأسنان

إشارةً إلى القرار الصادر عن مجلس كليتكم رقم /٣٢٢/ تاريخ ٢٠١٧/٤/٤ المتضمن اقتراح الموافقة على ما يلي :

١- قيد الطالب **عامر طقم ابن بسام** لنيل درجة الماجستير في النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان – قسم النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان بكلية طب الأسنان ، في موضوع بحثٍ بعنوان : (مقارنة درجة تعبير مشعر الانقسام " **Ki-67** " بين الأفات محتملة الخباثة والسرطانات شائكة الخلايا في الفم [دراسة كيميائية مناعية نسيجية]) .

٢- تسمية السيد الدكتور **شريف بركات** (الأستاذ المساعد في قسم النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان بكلية طب الأسنان) مشرفاً.

وإلى قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم /٢٠٩٧/ تاريخ ٢٠١٧/٦/١٢ المتضمن الموافقة على مضمون قرار مجلس كلية طب الأسنان رقم /٣٢٢/ تاريخ ٢٠١٧/٤/٤ أنف الذكر.

وبناءً على قرار مجلس الجامعة رقم /١٩٠٠/ تاريخ ٢٠٠٠/٥/٩ ، المتضمن التفويض إلينا البت في هذا الموضوع .

نوافق على مضمون قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم /٢٠٩٧/ تاريخ ٢٠١٧/٦/١٢ أنف الذكر ، وشريطة أن يتقدم – خلال شهر من تاريخه – بوثيقة صادرة عن نقابة أطباء الأسنان مفادها أنه حاصل على الترخيص المؤقت لمزاولة المهنة بصفة طالب دراسات عليا بجامعة دمشق .

وتجدون رفقاً الأصول المتعلقة بالموضوع ،،،

دمشق في ٢١ / ٦ / ٢٠١٧
رئيس جامعة دمشق

رئيس جامعة دمشق

الأستاذ الدكتور محمد حسان الكردي

٢٦ رمضان ١٤٣٨

/ ٢٢٠١ /
١٩ ٦ ٢٢

صورة إلى :
- السيد الأستاذ الدكتور نائب رئيس الجامعة لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا.
- مجلة جامعة دمشق – الجامعات السورية الأخرى : (حلب – تشرين – البعث– الفرات–حماه–طرطوس).
- وزارة التعليم العالي : مديرية البحث العلمي : للاطلاع والتوثيق .
- أمانة مجلس البحث العلمي والدراسات العليا – مكتب أمانة مجلس الجامعة .
- مديرية البحث العلمي : (مع استمارة الدراسات العليا للبحث العلمي).

تصريح

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

كـلـمـة شـكـر

الشكر أولا والحمد والثناء لله تعالى على ما وهبنا من النعم، فله الحمد دائماً وأبداً ...

وأتوجه بجزيل الشكر والامتنان إلى أساتذتي الذين أعطوا دون حساب وبذلوا الكثير حتى وصلنا إلى هذه المرحلة.

وأخص بالشكر الأستاذ الدكتور شريف بركات الذي تفضل مشكوراً بقبول الإشراف على هذه الأطروحة ولم يدّخر وقتاً أو جهداً في سبيل مساعدتي، ولم يبخل بالتوجيه والنصح لإكمال هذا العمل، فله جزيل الشكر والعرفان.

كما أتقدم بالشكر الجزيل للأساتذة الكرام الذين شرفوني في تحكيم هذا البحث: الأستاذ الدكتور أحمد المنديلي الذي غرس في صدورنا حب اختصاص النسج والتشريح المرضي منذ أيامنا الأولى في كلية طب الأسنان، والأستاذ الدكتور نبيل قوشجي لتفضلهما بقبول تحكيم هذا العمل وإغنائه بملاحظاتهم القيمة وإدلاء النصح والمتابعة الدائمة فلهما كل التقدير والاحترام.

وشكري الخاص للأستاذ الدكتور نبيل قوشجي لما قدمه لي من معونة في جمع العينة فله مني كل الإحترام والتقدير وأتقدم بالشكر والتقدير لكل أعضاء الهيئة التدريسية في قسم النسج والتشريح المرضي.

كما أتوجه بالشكر والامتنان لإدارة كلية طب الأسنان ممثلة بالأستاذ الدكتور سالم ركاب عميد كلية طب الأسنان، والأستاذ المساعد الدكتورة رانية حداد نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون العلمية، والأستاذ الدكتور أسامة الجبان نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون الإدارية.

أتقدم بجزيل الشكر للسيد ناصر كتابي (أبو جمال) الذي كان لنا بمقام الأب لما قدمه لي من خبرة بالمجال العملي والمخبري.

والشكر موصول لجميع زملائي وأصدقائي في قسم النسج والتشريح المرضي والأقسام الأخرى الذين لم يبخلوا بالنصح والمساعدة لإنجاز هذا البحث

الإهداء

إلى من تملك حب الدنيا بعطائها ..... إلى الروح

التي عاشت بها روحي

أمي

إلى قدوتي الأولى ..... ونبراسي الذي

ينير دربي

أبي

إلى من هم عزي وسندي ... أخوتي

الدكتور صالح وثائر ولين

إلى من جمعتني بهم أجمل الذكريات ... أصدقائي وزملائي

قائمة المحتويات

قائمة المحتويات 1
قائمة الجداول 5
قائمة المُخطّطات البيانيَّة..... 6
قائمة الأشكال التوضيحيّة..... 7
قائمة الاختصارات..... 9
المقدِّمة RODUCTIONINT..... 10
أهداف البحث AIMS OF STUDY 13
الباب الأول المراجعة النظريّة Literature Review..... 15
الفصل الأول: دورة الخلية (دورة الانقسام الخلوي): 16
1-1: المراحل phases: 17
1-1-1: مرحلة G0 (السكون): 18
1-1-2: الطور البيني (الانقسام الفتيلي الداخلي) interphase:..... 19
1-1-3: طور G1 (مرحلة النمو الأولى أو مرحلة فجوة التفرع الإنقسامية)..... 19
1-1-4: المرحلة S (تكرار الحمض النووي)..... 20
1-1-5: مرحلة G2 (النمو) 20
1-1-6: مرحلة الانقسام الفتيلي (انفصال الصبغيات) M: 21
1-1-7: الطور السيتوبلازمي (فصل جميع مكونات الخلية):..... 24
1-2: تنظيم دورة الخلية: 24
الفصل الثاني: بروتين Ki-67: 24
2-1: تعبيريَّة بروتين Ki-67 وتموضعه خلال الدَورة الخلويّة: 25
2-2: وظيفة بروتين Ki-67: 27
2-3: استخدام ضد Ki-67:..... 29
الفصل الثالث: الآفات محتملة الخباثة الفموية oral precancerous lesions:..... 31
3-1: تعريف الطلاوة Leukoplakia:..... 31
3-2: أسباب الإصابة:..... 34
3-3: المشاهدات السريرية: 36
3-4: المشاهدات النسيجية:..... 37
الفصل الرابع: سوء التصنع البشروي الفموي (OED):..... 39
4-1: تعريف سوء التصنع البشروي الفموي: 39

4-2: المظهر السريري لسوء التصنع البشروي الفموي: 40
4-3: المظهر النسيجي لسوء التصنع البشروي الفموي: 40
4-4: تصنيف آفات سوء التصنع البشروي الفموية: 41
4-5: تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO 2005: 42
فرط التقرن (التقران) (keratosis or hyperkeratosis) 43
فرط التصنع Hyperplasia: 43
درجات سوء التصنع البشروي Grades of dysplasia: 44
سوء التصنع البسيط Mild dysplasia: 44
سوء التصنع المتوسط Moderate dysplasia: 44
سوء التصنع الشديد Severe dysplasia: 45
السرطان البشروي الموضع Carcinoma in situ: 45
4-6: مساوئ نظام التصنيف WHO: 47
الفصل الخامس: التَنَشُؤ الورمي والسرطان: 48
5-1: السرطان شائك الخلايا للرأس و العنقhead and neck squamous cell carcinoma:..... 49
5-2: المظاهر السريرية لـ OSCC: 50
5-3: المشاهدات النسيجية لـ OSCC: 52
5-4: تصنيف السرطان شائك الخلايا في الفم حسب الدرجة السريرية والنسيجية: 53
5-4-1: حسب الدرجة السريرية Grade Classification: 53
5-4-2: التصنيف حسب الدرجة النسيجية Grade Classification: 55
5-5: الانذار: 57
5-6: أسباب الإصابة: 57
الباب الثاني مواد البحث وطرائقه MATRIALS AND METHODS 58
1: تصميم الدراسة: 59
2: عيّنة البحث: 59
2-1: حجم العيّنة: 59
2-2: العيّنة الشاهدة: 60
3: مواد البحث: 60
4: الأجهزة المستخدمة 61
5: طريقة العمل: 64

5-1: طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين: 64
5-2: طريقة التلوين المناعي: 65
6: التقييم النسيجي للعينات المدروسة: 70
6-1: التقييم النسيجي للعّينة الشاهدة الملونة H&E: 70
6-2: طريقة التقيّيم النسيجي لشرائح سوء التصنع البشروي الملونة H&E: 70
6-3: طريقة التقيّيم النسيجي لشرائح السرطان شائك الخلايا البشروي الملونة H&E: 71
6-4: التقييم النسيجي للعينّة الشاهدة الملوّنة IHC: 72
6-5: التقييم النسيجي للعينّات سوء التصنع البشروي والسرطان شائك الخلايا البشروي الملوّنة IHC: 72
7: الإختبارات الإحصائية المستخدمة: 72
الباب الثالث النتائج والدّراسة الإحصائية RESULT AND STATISTICAL STUDY 74
1: وصف العينة: 75
2: النتائج: 76
2-2: المجموعة الثانية: قيمة تعبيرية Ki-67 في مجموعة درجات سوء التصنع البشروي الفموي: 77
2-2-1: عينات سوء التصنع البشروي الفموي البسيط: 77
2-2-2: عينات سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط: 79
2-2-3: عينات سوء التصنع البشروي الفموي الشديد 81
2-3: المجموعة الثالثة: قيمة تعبيرية Ki-67 في عينة السرطان شائك الخلايا 83
2-3-1: السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I: 83
2-3-2: السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II: 85
2-3-3: السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III 87
3: الدراسة الإحصائية 90
اولاً: دراسة تأثير معدل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 على عينة البحث: 90
ثانياً: دراسة درجات سوء التصنّع البشّروي الفموي في عينة البحث: 92
ثالثاً: دراسة درجات السرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي في عينة البحث 95
رابعاً: دراسة الفرق في معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 بين درجات مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي ودرجات مجموعة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي: 98
الباب الرابع: المناقشة DISCUSSION 100
1: مناقشة تعبيرية Ki-67 في البشرة الفموية الطبيعية: 103
2: مناقشة تعبيرية Ki-67 في سوء التصنع البشروي الفموي: 104

3: مناقشة تعبيرية Ki-67 في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي: 106
4: مناقشة الفرق بين مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي ومجموعة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي: 109
الباب الخامس الإستنتاجات CONCLUSION 110
الباب السادس التوصيات والمقترحات SUGGESTION AND RECOMMENDATION 112
الباب السابع: المراجع REFERENCES 114
الملخص 125
الملخص باللغة العربية: 125
الملخص باللغة الإنكليزية: 127
الملحق Appendix 129

قائمة الجداول

الجدول (1-1) المراحل المختلفة من الطور البيني..... 17
جدول(1-2): تعريف الطلاوة البيضاء الفموية..... 32
جدول(1-3) الأمراض الواجب استبعادها عند تشخيص الطلاوة البيضاء الفموية 34
جدول (1-4) المعايير المستخدمة في تشخيص سوء التصنع الفموي (Barnes et al., 2005) 40
جدول (1-5): تصنيفات سوء التصنع البشروي المتبعة (Brennan et al., 2013)..... 42
جدول (1-6) تصنيف منظمة الصحة العالمية..... 47
جدول(1-7) رموز معطيات درجة الورم السريرية في السرطان شائك الخلايا الفموي.(Cubilla et al., 2018)
..... 54
الجدول(1-8) تصنيف السرطان شائك الخلايا حسب الدرجة السريرية..... 54
الجدول (2-2) تصنيف السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي المعتمد في الدراسة 71
الجدول (3-1) نسب المجموعات ضمن العينة..... 75
الجدول (3-2) يوضح نتائج المجموعة الشاهدة 77
الجدول (3-3) يوضح نتائج مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي البسيط..... 79
الجدول (3-4) يوضح نتائج مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط..... 81
الجدول (3-5) يوضح نتائج مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي الشديد 83
الجدول (3-6) يوضح نتائج مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I 85
الجدول (3-7) يوضح نتائج مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II 87
الجدول (3-8) يوضح نتائج مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III..... 89
الجدول (3-9) الإحصاءات الوصفية لمعدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث..... 90
الجدول (3-10) يبين قيمة معدّل تعبيرية أنوية الخلايا لل Ki-67..... 91
الجدول (3-11) يبين المقارنة الثنائية لمقدار تعبيرية Ki-67..... 92
الجدول (3-12) يبين معدّل تعبيريّة Ki-67 في درجات سوء التصنّع البشّروي الفموي..... 93
الجدول (3-13) يبين قيمة معدّل تعبيرية أنوية الخلايا لل Ki-67 في درجات سوء التصنّع البشّروي الفموي. 94
الجدول (3-14) يبين الفروق الثنائية في متوسط معدّل تعبيريّة Ki-67 بين مجموعات درجة سوء التصنّع
البشّروي الفموي..... 94
الجدول (3-15) يبين معدّل تعبيريّة Ki-67 في درجات السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي. 95
الجدول (3-16) يبين قيمة معدّل تعبيريّة أنوية الخلايا لـ Ki-67 في درجات السرطان شائك الخلايا البشّروي
الفموي. 96
الجدول (3-17) يبين الفروق الثنائية في متوسط معدّل تعبيريّة Ki-67 بين مجموعات درجة السرطان شائك
الخلايا البشّروي الفموي. 97
الجدول (3-18) يبين نتائج المقارنة الثنائية بين متوسط معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 بين مجموعات
درجة الإصابة لسوء تصنع بشّروي الفموي ودرجات الإصابة بالسرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي..... 98

قائمة المُخطّطات البيانيَّة

المخطط (3-1) توزيع العينة ضمن المجموعات

مخطط (3-2) يبين المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث.

المخطط (3-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم معدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث وفقاً لدرجة سوء التصنّع البشروي الفموي.

مخطط (3-4) يمثل المتوسط الحسابي لقيم معدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث وفقاً لدرجة السرطان شائك الخلايا.

قائمة الأشكال التوضيحيّة

الشكل(1-1) يوضح دورة الانقسام الخلوي 16
الشكل (1-2) رسم تخطيطي لدورة الخلية. 21
شكل: (1-3) طريقة تشخيص الLeukoplakia..... 33
شكل (1-4) فرط التقرن في البشرة..... 43
الشكل (1-5) فرط التصنع البشروي القاعدي..... 43
الشكل (1-6) يمثل سوء التصنع البسيط..... 44
شكل (1-7): سوء تصنع متوسط في البشرة الفموية..... 44
الشكل (1-8) سوء تصنع شديد في البشرة الفموية 45
الشكل (1-9) سرطان موضع في البشرة الفموية..... 46
الشكل (1-10) الأشكال السريرية للسرطان شائك الخلايا 51
الشكل (2-1) الكحول..... 62
الشكل (2-2) الإيكزيلول 62
الشكل(2-3) الشرائح الزجاجية والسواتر..... 62
الشكل (2-4) الهيماتوكسيلين والإيوزين..... 62
الشكل (2-5) ظروف المحلول الدارىء من Dako..... 62
الشكل (2-6) محلول إسترجاع المستضد Dako..... 62
الشكل (2-7) الكيت المناعي المفرد من Bio-SB 62
الشكل (2-8) ضد متعدد النسائل لـ Ki-67..... 62
الشكل (2-9) قلم التحديد 63
الشكل (2-10) المبشرة النسيجيّة..... 63
الشكل (2-11) المحمّ المائي 63
الشكل (2-12) السخّان..... 63
الشكل (2-13) المايكرويف..... 63
الشكل (2-14) الممص..... 63
الشكل (2-15) المجهر الضوئي 63
الشكل (2-16) يوضح اختبار فعالية الملون 65
الشكل (2-17) تحديد العينة بقلم Dako 68
الشكل (2-18) تطبيق البيروكسيداز 68
الشكل (2-19) غمر السلايدات في السائل الدارىء 69
الشكل (2-20) تطبيق الضد الأولي..... 69
الشكل (2-21) تطبيق HRP-Label على النسيج..... 69
الشكل (2-22) تحضير الكروموجين 69
الشكل (2-23) تطبيق الكروموجين 69
الشكل (2-24) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج..... 69

الشكل (3-1) يوضح البشرة الفموية الطبيعية تلوين H&E تكبير 400X 76
الشكل (3-2) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية 76
الشكل (3-3) يوضح سوء التصنع البشروي البسيط تلوين H&E تكبير 400X 78
الشكل (3-4) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية وبعض خلايا الطبقة فوق القاعدية 78
الشكل (3-5) يوضح سوء التصنع البشروي المتوسط تلوين H&E تكبير 400X..... 80
الشكل (3-6) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية وخلايا الطبقة فوق القاعدية و بعض خلايا الطبقة الشائكة 80
الشكل (3-7) الشكل (3-5) يوضح سوء التصنع البشروي الشديد تلوين H&E تكبير 400X 82
الشكل (3-8) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية وخلايا الطبقة فوق القاعدية وخلايا الطبقة الشائكة وصولاً للطبقة الحبيبية تكبير 400X. 82
الشكل (3-9) يوضح السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I تلوين H&E تكبير X100 84
الشكل (3-10) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية من شائك الخلايا الفموي الدرجة I تكبير 400X..... 84
الشكل (3-11) يوضح السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II تلوين H&E تكبير 400X 86
الشكل (3-12) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية مع بعض نوى الخلايا في المرك من شائك الخلايا الفموي الدرجة II تكبير 400X. 86
الشكل (3-13) يوضح السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III تلوين H&E تكبير 400X..... 88
الشكل (3-14) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية مع معظم نوى الخلايا في المركز من شائك الخلايا الفموي الدرجة III تكبير 400X..... 88

قائمة الاختصارات

الإختصار	المصطلح باللغة الإنكليزية	المصطلح باللغة العربية
HIV	**Human Immunodeficiency virus**	**فيروس عوز المناعة المكتسب**
HPV	**Human Papillomavirus**	**الفيروس الحليمي البشروي**
OEP	**Oral Epithelial Dysplasia**	**سوء التصنع البشروي الفموي**
OSCC	**Oral Squamous Cell Carcinoma**	**السرطان شائك الخلايا الفموي**
OSMF	**Oral Submucous Fibrosisi**	**التليف تحت المخاطية الفموية**
NOE	**Normal Oral Epithelium**	**البشرة الفموية الطبيعية**
PVL	**Proliferative Verrucous Leukoplakia**	**الطلاوة الثؤلولية المتكاثرة**
WHO	**World Health Organization**	**منظمة الصحة العالمية**

المقدِّمة

INTRODUCTION

المُقدِّمة Introduction:

يُعد سرطان الفم من أكثر أنواع السرطانات شيوعاً ويشكل مشكلة صحية كبرى في البلدان النامية، ويمثل السبب الرئيسي للوفاة. على الرغم من أنه يمثل 2-4٪ من الأورام الخبيثة في الغرب، يشكل هذا السرطان ما يقارب 40٪ من جميع حالات السرطان في شبه القارة الهندية(Mehrotra et al., 2006). ومن العوامل الرئيسية في عدم وجود تحسن في التشخيص عبر السنين هو أن نسبة كبيرة من السرطانات شائكة الخلايا الفموية (OSCC) لا تُشخّص أو تُعالج حتى تصل إلى مرحلة متقدمة. ان إنذار المرضى الذين يعانون من OSCC والذين يعالَجون في وقت مبكر أفضل بكثير، مع معدلات بقاء على قيد الحياة لمدة 5 سنوات تصل إلى 80٪، وبالإضافة إلى ذلك، تتحسن نوعية الحياة أيضاً بعد العلاج المبكر (Mehrotra et al., 2006).

هناك نسبة كبيرة من OSCC تتطور من الآفات قُبيل السرطانية مثل الطلاوة والتليف تحت المخاطية الفموية (OSMF). ويبقى الفحص المجهري للنسيج هو المعيار الذهبي للتشخيص وتحديد الآفات الفموية الخبيثة (Bajpai and Gupta, 2018).

تحدث التغيّرات على المستوى الجزيئي في الآفة قبل التغيرات السريرية والتشريحية المرضية، وتحديد الخطورة العالية للآفات محتملة الخباثة للفم والتدخل في مراحل ما قبل السرطان يمكن أن يشكل أحد المفاتيح للحد من الوفيات والإمراضية وتكاليف العلاج المرتبطة بـ OSCC (Mehrotra et al., 2006).

تُعتبر الطلاوة آفة شائعة في الغشاء المخاطي للفم، وهي تُعرف بأنها لويحة بيضاء لا يمكن أن توصف سريرياً أو مرضياً كأي مرض آخر. ان النسبة المئوية للطلاوات التي تتحول الى SCC غازية مرتبط بشكل مباشر بحدة تغيرات سوء التصنع وتتراوح من 5 الى 43% (Liu and Klein-Szanto, 2000).

لقد تمّ الاتفاق على أن الآفات محتملة الخباثة تكون مترافقة مع التدخين وشرب الكحول واللّذين يعدّان من أهم العوامل المساعدة على التحول من آفة ماقبل سرطانية الى آفة سرطانية (Win et al., 2005). وقد اقُترحت الواسمات الحيوية الجزيئية لتكون ذات قيمة في تشخيص وتقييم الإنذار للآفات محتملة الخباثة.

ان واسمات التكاثر، والتمايز الظهارية والواسمات الجينية من المحتمل أن تكون مرشحاً جيداً لتحسين تقييم الإنذار للآفات محتملة الخباثة. حتى الآن، لم يتم تحديد قائمة للواسمات الجزيئية التي تسمح بالتنبؤ التشخيصي لإنذار الآفات محتملة الخباثة. ومع ذلك، يمكن اعتبار هذه الواسمات الجديدة مكملة لعملية تقييم الإنذار التقليدية (Reibel, 2003).

أهداف البحث

AIMS OF STUDY

يهدف هذا البحث إلى:

1- مقارنة تعبيرية مشعر الانقسام "Ki-67" في الدرجات النسيجية المختلفة من سوء التصنع البشروي مع البشرة الفموية الطبيعية.

2- مقارنة تعبيرية مشعر الانقسام "Ki-67" في الدرجات النسيجية المختلفة من السرطان شائك الخلايا البشروي مع البشرة الفموية الطبيعية.

3- مقارنة تعبيرية مشعر الانقسام "Ki-67" في الدرجات النسيجية المختلفة من سوء التصنع البشروي مع درجات السرطان شائك الخلايا البشروي.

الباب الأول

المراجعة النظريّة

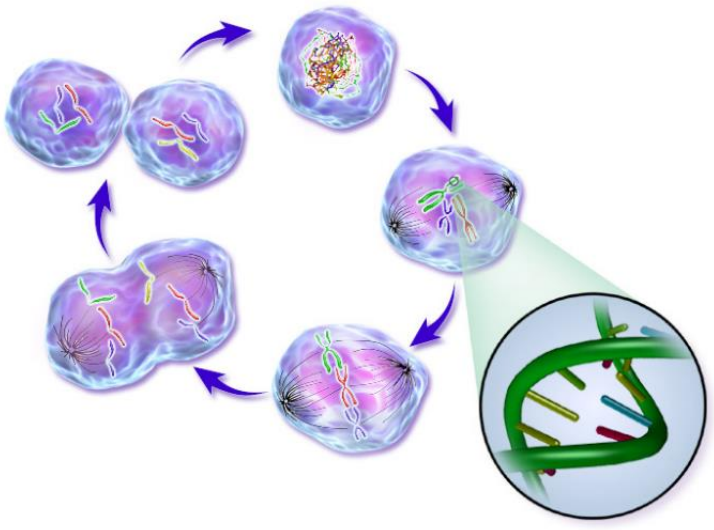
Literature Review

الفصل الأول: دورة الخلية (دورة الانقسام الخلوي):

هي سلسلة من الأحداث تحدث في الخلية مما يؤدي إلى انقسامها وتكرارها ابتداءً من الحمض النووي (تكرار الحمض النووي) لإنتاج خليتين بنتين. في الخلايا المنوّاة، كما هو الحال في حقيقيات النوى، تنقسم دورة الخلية أيضا إلى ثلاثة أطوار: الطور البيني، والطور الإنقسامي (M)، والحمل الخلوي (Wang and Levin, 2009).

خلال المرحلة البينية، تنمو الخلية، وتتراكم العناصر الغذائية اللازمة للانقسام الفتيلي، وإعدادها لتقسيم الخلية وتكرار الحمض النووي. خلال المرحلة الإنقسامية، تفصل الكروموزومات. وخلال المرحلة النهائية، فإن المتعضيات الخلوية، الصبغيات والهيولى تنقسمان إلى خليتين جديدتين(Smith and Martin, 1973).

لضمان الانقسام الصحيح للخلية، توجد آليات تحكّم تُعرف بنقاط تحقق دورة الخلية.



الشكل(1-1) يوضح دورة الانقسام الخلوي

إن دورة الانقسام الخلوي هي عملية حيوية تتطور من خلالها بويضة مخصبة وحيدة الخلية إلى كائن حي ناضج، وكذلك العملية التي يتم بها تجديد الشعر والجلد وخلايا الدم وبعض الأعضاء الداخلية (Cameron and Greulich, 1963).

بعد الانقسام الخلوي، تبدأ كل خلية من الخلايا البنات في الطور البيني بدورة جديدة.

على الرغم من أن المراحل المختلفة من الطور البيني لا يمكن تمييزها شكلياً، فإن كل مرحلة من دورة الخلية لها مجموعة متميزة من العمليات الحيوية الكيميائية المتخصصة التي تعد الخلية لبدء الانقسام الخلوي (Spellman et al., 1998).

الحالة	الطور	الاختصار	الوصف
الراحة	**Gap 0**	**G_0**	الطور الذي تخرج فيه الخلية من الدورة الخلوية وتتوقف عن الانقسام
الطور البيني	**Gap 1**	**G_1**	يزداد حجم الخلايا في هذه المرحلة. تتأكد خلالها نقاط التحقق الخاصة بهذا الطور من أن كل شيء على ما يرام وجاهز من أجل تركيب الـ دنا
	Synthesis	**S**	يتم نسخ الـ دنا في هذه المرحلة
	Gap 2	**G_2**	يزداد هنا حجم الخلية ويتم التأكد بواسطة نقاط التحقق الخاصة بهذا الطور من أن كل شيء جاهز لعملية الانقسام M
الانقسام	**Mitosis**	**M**	يتوقف نمو الخلية في هذا الدور وتتركز قدرة الخلية على الانقسام المرتب لخليتين بنتين وهنا تتأكد نقاط التحقق الخاصة بهذا الدور من أن الخلية جاهزة لإتمام عملية الانقسام.

الجدول (1-1) المراحل المختلفة من دورة الخلية

1-1: المراحل phases:

تتكون دورة الخلية من أربع مراحل متميزة: طور G1، طور S (تركيب)، طور G2 (G1+S+G2 يعرف باسم الطور البيني) والطور M (الانقسام أو الانقسام الاختزالي). يتكون الطور M نفسه من عمليتين متلازمتين بإحكام: الـ Karyokinesis (مرحلة انقسام

النواة)، حيث تنقسم صبغيات الخلية، و الـ cytokinesis، حيث تنقسم السيتوبلازما الخلوية لتشكيل خليتين بنتين. يعتمد تفعيل كل مرحلة على التقدم السليم والانتهاء من المرحلة السابقة. يقال إن الخلايا التي توقفت عن الانقسام مؤقتًا أو عكسيًا قد دخلت حالة من الهدوء تسمى مرحلة G0 (Dong et al., 2014).

1-1-1: مرحلة G0 (السكون):

G0 هي مرحلة الراحة حيث غادرت الخلية الدورة وتوقفت عن الانقسام. تبدأ دورة الخلية بهذه المرحلة. تستخدم كلمة "post-mitotic" (مابعد الانقسام) في بعض الأحيان للإشارة إلى كل من الخلايا الهادئة والخلايا الكهلة. تدخل الخلايا غير المتكاثرة (غير المنقسمة) في حقيقيات النواة المتعددة الخلايا عموماً حالة G0 الهادئة بالمرحلة G1 وقد تبقى هادئة لفترات طويلة من الزمن، وربما إلى أجل غير مسمىً (كما هو الحال في العصبونات). هذا أمر شائع جدًا للخلايا المتمايزة تمامًا (White et al., 2008).

تحدث الشيخوخة الخلوية رداً على تلف الحمض النووي والضغط الخارجي وعادة ما يؤدي الى توقف G1. تدخل بعض الخلايا مرحلة G0 بشكل دائم، وتعتبر بمرحلة مابعد الإنقسام الفتيلي، على سبيل المثال بعض خلايا الكبد والكلى والمعدة. العديد من الخلايا لا تدخل G0 وتستمر في الانقسام خلال حياة الكائن كالخلايا الظهارية. الشيخوخة الخلوية هي أيضا حالة تحدث استجابة لأضرار الحمض النووي أو التدهور الذي من شأنه أن يجعل ذريّة الخلية غير قابلة للتطبيق. غالباً ما يكون البديل الحيوي الكيميائي هو التدمير الذاتي للخلية التالفة من خلال الموت المبرمج (Sidorova et al., 1995).

1-1-2: الطور البيني (الانقسام الفتيلي الداخلي) interphase:

قبل أن تتمكن الخلية من الدخول إلى الانقسام الخلوي، تحتاج إلى تناول المغذيات. تتم جميع الاستعدادات أثناء الطور البيني. Interphase هو سلسلة من التغييرات التي تحدث في خلية تشكلت حديثاً، قبل أن تصبح قادرة على الانقسام مرة أخرى. ويسمى أيضا المرحلة التحضيرية. في السابق كان يطلق عليه مرحلة الراحة لأنه لا تبدي الخلية أي نشاط واضح يتعلق بانقسامها. يدوم الطور البيني بشكل نمطي لا يقل عن 91٪ من الوقت الإجمالي اللازم لدورة الخلية. تتم عمليات الطور البيني في ثلاث مراحل، G، S، وG2، تليها دورة الانقسام الفتيلي والخلوي. تتضاعف محتويات الدنا النووي للخلية خلال مرحلة S ولكنها قد تستمر حتى G2 في حالة الكروماتين المغاير Heterochromatin (De Souza and Osmani, 2007).

1-1-3: طور G1 (مرحلة النمو الأولى أو مرحلة فجوة التفرع الإنقسامية)

هي المرحلة الأولى داخل الطور البيني، من نهاية المرحلة M السابقة حتى بداية تخليق الحمض النووي، تسمى (G1)(G indicating *gap*) . يطلق عليها أيضا مرحلة النمو. خلال هذه المرحلة، تستأنف الأنشطة الحيوية للخلية " التي تباطأت بشكل كبير خلال مرحلة M" بمعدل مرتفع.

ان مدة G1 متغيرة للغاية، حتى بين الخلايا المختلفة من النوع نفسه. في هذه المرحلة، تزيد الخلية من إمداد نفسها بالبروتينات، وتزيد عدد العضيات (مثل الميتوكوندريا والريبوزوم) وتنمو في الحجم. في مرحلة G1، تملك الخلية ثلاثة خيارات: (1) مواصلة دورة الخلية ودخول المرحلة S ، (2) إيقاف دورة الخلية ودخول مرحلة G0 للتمايز، (3) التوقف في

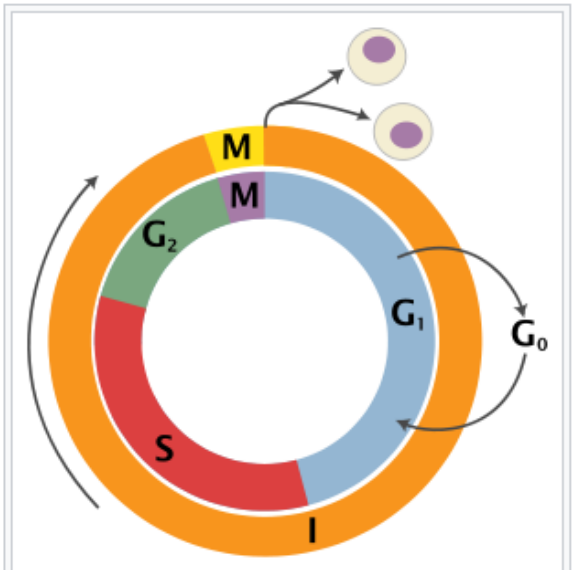
مرحلة G1 ومن ثم قد تدخل مرحلة G0 أو إعادة دورة الخلية. العامل الحاسم هو توفر النيتروجين وتخزين المركبات الغنية بالطاقة في نقطة الفصل المسماة نقطة التحقق. وتسمى نقطة التفتيش هذه نقطة التقييد أو START وتنظمها دورتا G1 / S، التي تسبب الانتقال من طور G1 إلى S. ان المرور عبر نقطة التحقق G1 يُلزم الخلية بالانقسام (Amon et al., 1994).

1-1-4: المرحلة S (تضاعف الحمض النووي)

تبدأ المرحلة S التالية عند بدء تصنيع DNA؛ عند اكتمالها، يتم نسخ كل الصبغيات، أي أن كل كروموسوم يحتوي على صبغيين (شقيقين). وهكذا، خلال هذه المرحلة، تضاعف بشكل فعال كمية الحمض النووي في الخلية، على الرغم من أن صيغة الخلية الصبغية لا تزال نفسها. ان معدلات نسخ الرنا والبروتين منخفضة جدا خلال هذه المرحلة. باستثناء إنتاج الهيستون، ومعظمها يحدث خلال المرحلة S (Mochida et al., 2009).

1-1-5: مرحلة G2 (النمو)

تحدث مرحلة G2 بعد تضاعف الحمض النووي (DNA) وهي فترة من تخليق البروتين ونمو الخلايا السريع لتحضير الخلية للانقسام الفتيلي. خلال هذه المرحلة تبدأ الأنابيب الدقيقة في إعادة التنظيم لتشكيل مغزل (Alter, 2004).



الشكل (1-2) رسم تخطيطي لدورة الخلية.

الحلقة الخارجية: I = الطور البيني، M = الانقسام؛ الحلقة الداخلية: M = Mitosis، G1 = Gap 1، G2 = Gap 2، S = Synthesis؛ ليس في الحلقة: G0 = Gap 0 / Resting. [2]

1-1-6: مرحلة الانقسام الفتيلي (انفصال الصبغيات) M:

تتكون المرحلة M من الانقسام النووي (karyokinesis)، إنها فترة قصيرة نسبياً من دورة الخلية. ان الطور M معقد ومنظم للغاية. ينقسم تسلسل الأحداث إلى مراحل، تقابل إكمال مجموعة واحدة من الأنشطة وبدء المرحلة التالية. هذه المراحل معروفة بشكل تسلسلي على النحو التالي:

(الطور الأوّلي prophase، الطور الثاني (الانتقالي)metaphase، طور الصعود anaphase، الطور النهائي telophase) (Gao, 2017).

الطور الأوّلي prophase:

الطور الأوّلي هو المرحلة الأولى من الإنقسام الفتيلي في الخلايا الحيوانية والمرحلة الثانية من الإنقسام الفتيلي في الخلايا النباتية. في بداية الطور، هناك نسختان متطابقتان من كل صبغي في الخلية بسبب التكرار الحاصل في الطور البيني. ويشار إلى هذه النسخ باسم الكروماتيدات الشقيقة وتعلق بواسطة عنصر الحمض النووي المسمىcentromere. أهم الأحداث في الطور الأوّلي هي: تكثف الصبغيات، وحركة الجسيمات المركزية، وتشكيل المغزل الإنقسامي، وبداية تخرب النوية (Pramila et al., 2006).

المرحلة الانتقالية (الطور الاستوائي) Metaphase:

هي مرحلة من الانقسام الفتيلي في دورة الخلية حقيقية النواة، حيث تكون الصبغيات في ثاني أكثر مرحلة مكثفة وملفوفة (تكون في أكثر مراحلها تكاثفًا في هذا الطور). هذه الصبغيات تصطف في خط الإستواء للخلية (وهو خط وهمي متساوي المسافات بين القطبين المركزيين) قبل أن يتم فصلها إلى كل خلية من الخليتين. هذه المحاذاة هي نتيجة لموازنة قوى السحب المتولدة عن الأنابيب المكروية المتقابلة، المشابهة لشد الحبل بين شخصين متساويين في القوة، تنتهي بتخرب البيتاسايكلين (Alter and Golub, 2004).

في أنواع معينة من الخلايا لا تصطف الصبغيات في الصفيحة الطورية، وبدلاً من ذلك تتحرك ذهاباً وإياباً بين القطبين عشوائياً، تصطف فقط على طول خط الوسط. يمكن أن تتطابق الأحداث المبكرة من هذا الطور مع الأحداث الأخيرة من الطور الاول. حيث أن الصبغيات التي تمتلك حيزاً حركياً ستقوم ببدء أحداث هذا الطور بشكل فردي قبل الصبغيات الأخرى غير المترابطة والتي لا تزال موجودة من المرحلة ماقبل الانتقالية.

طور الصعود Anaphase:

هي المرحلة بعد الطور الاستوائي عندما تنقسم الصبغيات المنسوخة ويتم نقل الكروماتيدات البنات إلى الأقطاب المتقابلة للخلية. تصل الصبغيات أيضاً إلى أقصى تكاثف لها في أواخر هذا الطور، وذلك للمساعدة في فصل الصبغيات وإعادة تكوين النواة. حالما تنجذب الصبغيات إلى كل جانب من الخلية، فإن الألياف المغزلية غير الحركية تدفع بعضها بعضاً، وفي حركة متصاعدة، تمدد الخلية إلى شكل بيضاوي.

بمجرد اكتمال anaphase، تنتقل الخلية إلى telophase (LeMaire-Adkins et al., 1997).

الطور النهائيTelophase:

هي المرحلة النهائية في كل من الانقسام المنصف والانقسام الفتيلي في الخلية حقيقية النواة. خلال مرحلة هذا الطور، يتم عكس آثار الطور الأولي وماقبله (الغشاء النووي والنواة المتحللة). تتكون نواتان بنتان في كل خلية بنت، وتتشكل مظاريف نووية حول كل نواة من مكونات الغلاف النووي للخلية الأم. هناك عدة نظريّات حول كيفية حدوث ذلك أشهرها:

نظرية اندماج الحويصل-عندما تندمج شظايا الغشاء النووي لإعادة بناء الغشاء النووي الجديد، حيث أن أجزاء من الشبكة السيتوبلاسمية الداخلية المحتوية على غشاء نووي مغمور تغلف الحيّز النووي، (إصلاح غشاء مغلق). تصل الصبغيات إلى الأقطاب عندما تتشكل الأغشية النووية حول كل مجموعة من الكروماتيدات، كما تظهر النوية مرة أخرى. يكوّن الـ Telophase ما يقرب من 2 ٪ من مدة دورة الخلية (LeMaire-Adkins et al., 1997).

1-1-7: الطور الهيولي (فصل جميع مكونات الخلية):

يتبع فوضى الانقسام الخلوي مباشرة، الذي يقسم النواة، الهيولى، العضيات وغشاء الخلية إلى خليتين تحتويان على حصص متساوية تقريباً من هذه المكونات الخلوية. هذه الأحداث تشكّل ما يقرب من 10 ٪ من دورة الخلية.

إن عملية الانقسام الفتيلي معقدة للغاية. ينقسم تسلسل الأحداث إلى عدة مراحل، يتقابل إكتمال مجموعة واحدة من الأنشطة ببدء المرحلة التالية تنقسم الخلية بعد ذلك بالهيولى، لإنتاج خليتين متشابهتين (Sakaue-Sawano et al., 2008).

1-2: تنظيم دورة الخلية:

يتضمن تنظيم دورة الخلية عمليات حاسمة لبقاء الخلية، بما في ذلك الكشف عن الضرر الوراثي وإصلاحه بالإضافة إلى منع انقسام الخلية غير المتحكم فيه. يتم ترتيب الأحداث الجزيئية التي تتحكم في دورة الخلية واتجاهها؛ أي أن كل عملية تحدث بطريقة متسلسلة وأنه من المستحيل "عكس" الدورة (Sakaue-Sawano et al., 2008).

الفصل الثاني: بروتين Ki-67:

أول من قام بالتعرُّف على ضد الـ Ki-67 هو Geredes وزملائه في العام 1983 باستخدام أضداد فأريّة وحيدة النسيلة تمّ توليدُها من خِلال تمنيع immunizing الفئران بنوى سلالة خلويّة مأخوذة من لمفوما هودجكن، وقد تمّ اشتقاق اسم البروتين من اسم المدينة التي اكتُشف فيها وهي مدينة كيل Kiel ومن رقم السُلالة الأصليَّة التي نمت في الطبق رقم 67 في المُختبر (Gerdes et al., 1984a).

أشارت التجارب على المستوى الجزيئي وجود الضد الخاص بـ ki-67 داخل النويّة في الخلية أثناء مراحل التكاثر الخلوي بينما زالت التعبيرية أثناء مرحلة السكون. ويعتبر ki-67 واسماً جيداً لتمييز مرحلة التكاثر الخلوي وذلك بسبب غياب تعبيره في الخلايا الساكنة غير المتكاثرة بالاضافة لتعبيريته الهامة في الخلايا في طور التكاثر سواء كانت طبيعية أو ورمية المنشأ. تم دراسة Ki-67 على نطاق واسع باعتباره واسماً إنذارياً محتملاً للتكاثر في الدراسات التراجعية عن الأمراض الخبيثة (Scholzen and Gerdes, 2000).

أظهرت الدراسات السريرية الـ Ki-67 كأداة تشخيص واعدة للسرطان. التلوين المناعي لتعبيرية الـKi-67 هو المقياس الذهبي، ان 10-14 ٪ تعبيرية إيجابية تدل على معدل خطورة عالية لذا فإن مؤشر Ki-67 أصبح عاملاً تشخيصياً مستقلاً لمرضى سرطان البروستات (Cattoretti et al., 1992).

نظراً لأهمية دور الـki-67 في التكاثر الخلوي، يمكن اعتبار تثبيط الـ ki-67 من الاستراتيجيات المقترحة في علاج السرطان. وقد تم اقتراح الـ ki-67 كعلاج مستهدف للخلايا السرطانية. وذلك لأن تركيزه مرتفع للغاية في الخلايا السرطانية ولكنه نادراً ما يشاهد في الخلايا الطبيعية (Gerdes et al., 1991).

2-1: تعبيريَّة بروتين Ki-67 وتموضعه خلال الدَورة الخلويّة:

عموماً يتم التعبير عن البروتين Ki-67 النووي فقط في الخلايا المتكاثرة. يقع Ki-67 أساساً في القشرة النووية خلال الطور البيني، ويتم تجنيدها للصبغيات المكثّفة أثناء الانقسام

الفتيلي. يقع جين Ki-67 على الكروموسوم 10 q25-ter ويشفر وحدتين من Ki-67 345 و 395 كيلو دالتون، على التوالي (Gerdes et al., 1984a).

يزيد مستوى تعبير Ki-67 في المرحلة G1 من الانقسام ثم ينخفض بسرعة بعد الانقسام الفتيلي. تم اكتشاف البروتين Ki-67 في نواة الخلايا في المرحلة G1، S، G2 من الانقسام، ولكن ليس في نوى الخلايا الهادئة في مرحلة G0.

ان توزع Ki-67 ضمن الخلية لايعد توزعاً منتظماً ولكن يتعلق بالعديد من العوامل أثناء الانقسام الخلوي. فأثناء المراحل الباكرة من المرحلة G1 يظهر Ki-67 في الهيولى داخل النواة مشكلاً تجمعات متفاوتة الحجم. وبعد مرحلة جمع الأنوية أثناء الدور G1 يشاهد Ki-67 في المكونات الكثيفة لليفات (Urruticoechea et al., 2005).

في الدور S وآخر الدور G2 يشاهد Ki-67 بشكل أساسي في النويّات بالإضافة لوجوده في الهيولى النوويّة. وأثناء الانقسام تبدو بشكل جليّ عملية تكرار ظهور التعبيرية، ففي الدور الأول prophase يظهر Ki-67 بشكل يشبه الشبكة الدقيقة مع ازدياد بكثافة الكروماتين. وأثناء الدور التالي metaphase يتم تغطية كل واحد من الصبغيات بشبكة دقيقة من الليفات. في الدور الصاعد Anaphase يبدو البروتين مصطبغاً بشكل حبيبي بشكل كبير. اما في الدور النهائي telophase يقوم Ki-67 بالانفصال عن الصبغيات ويشاهد على شكل بؤر متجمّعة في الهيولى النووية (Kee et al., 2002).

لذلك فتعبير Ki-67 يشير إلى حالة تكاثر الخلايا. في الواقع Ki-67 هو شديد التعبيرية في الخلايا السرطانية واقتُرح كعلامة تشخيصيّة وعلاجيّة (Kee et al., 2002).

2-2: وظيفة بروتين Ki-67:

ان الوظيفة الاساسية للبروتين **Ki-67** غير واضحة رغم سعي العديد من الدراسات الى تحديد وظيفته. فخلال الطور البيني interphase يتوضع الـ Ki-67 بشكل واضح في النويّات لكن عند بدء الانقسام يعيد تموضُعه على محيط الصبغيات المتكثّفة.

يتواجد قُرابة 40% من الـ**Ki-67** على الصبغيات الانتصافية المعزولة والتي تُعد جزءاً من الطبقة حول الصبغية. تشمل المكونات الرئيسية للغمد المحيط بالصبغي على بروتينات القالب النووي وبروتينات نوويّة وبروتينات ريبوزومية والرنا النووي الصغير snRNA (Allegra et al., 2003).

تُغطِّي هذِه الطَبَقة الصبغي من تيلومير إلى آخر باستثناء القُسيم المركزي centromere ويتواجد على الصبغيَّات مُنذُ الطور الأوَّل وحتّى الطور الانتهائي (Gautier et al., 1992).

يُعَد الـ Ki-67 أحد أوّل البروتينات التي ترتَبط مع الطَبَقة المُحيطة بالصبغيَّات خِلال الانقسام الفتيلي الذي يحدُث أثناءَ الانتقال من الطور الأول إلى طليعة الطور التالي prometaphase، وهي غالباً تقوم بدور السقّالة أو المِنصَّة التي تقود المكونات النوويّة في مُحيط الصبغي لتشكيل الحيِّز المحيط بالصبغي. وبعد نفاد الـ Ki-67 تكون الصبغيَّات قد امتلكت غِمدَاً ناقِصاً مُحيطاً بها. وعلى الرغم من انفصال الصبغيَّات في الجزء الأوَّل من الانقسام إلّا أنَّ شكلها وبُنيتَها تبقى ذاتَها دون تغيير بعد نفاد الـ Ki-67، لكن تحدُث تغيُّرات دراماتيكيَّة في مورفولوجيَّة النواة بعد الانقسام (Keating et al., 2001).

في الأنوية التي يُستَنفد منها الـ Ki-67 تكون الخَليَّة أصغر من مثيلاتها الطبيعيَّة، حيث تحتوي الخَليَّة على نُويَّة واحدة كبيرة وتحدُث إعادة ترتيب لبعض الصبغيات. والخَلايا التي يُستَنفذ فيها الـ Ki-67 يمكن أن تتقدَّم إلى دورة خلويّة أُخرى لكنَّ الجُزء الثاني من الانقسام يترافق مع بعض الصعوبات وزيادة في مُعدَّل الاستموات مع تأخُّر ملحوظ في العمليّة الانقساميَّة (Booth et al., 2014). لذلك فإنَّ التغيُّرات في تعبيريَّة Ki-67 في الخَلايا الوَرَميَّة النامية مُقارنة بالخَلايا الطبيعيَّة يمكن أن تُستخدَم كمُشعِر مُبكِّر لفعاليَّة المعالجة وكعامل إنذاري للنتائج على المدى البعيد لدى مرضى السرَطان (Dowsett et al., 2011).

تمَّ استنتاج دور Ki-67 في الانقسام الخُلوي من خِلال مُلاحظة توقُّف تكاثُر الخَلايا عند القيام بحصره من خِلال أجسام مضادَّة (Starborg et al., 1996) أو من خِلال تثبيط عمليّة نزع فسفرة السيرين و الثيرونين (Heidebrecht et al., 1996). كما أظهرت دِرَاسات أُخرى اشتراك بروتين Ki-67 في الخُطوات الأولى لتصنيع الرنا الريبوزومي rRNA (Bullwinkel et al., 2006)، بالإضافة إلى دورِهِ في استقرار وحماية المغازِل الانقساميَّة خِلال الانقسام الفتيلي من خِلال تجنيد Hklp2 في الصبغيات الانقسامية (Vanneste et al., 2009).

بكُلّ الأحوال مازلنا لا نعرف سوى القليل عن الوظائف الأخرى لـ Ki-67، ويُمكن أن تُعزى الصعوبات في تحديد أدواره إلى عدم تشابُهِهِ مع بروتينات أُخرى معروفة الوظيفة.

2-3: استخدام ضد Ki-67:

في الماضي تمَّ تلوين الأنسِجة الطازجة والمُجمَّدة مناعيَّاً بالـ Ki-67 لأنَّ تثبيت الخَلايا كان يُسبِّبُ انخفاضاً في التألُّق المناعي، وبمرور الوقت استطاع الباحثون تقييم العديد من الأجسام الضديَّة في المقاطع البرافينيَّة بعدَ القيام بعمليّة استرجاع المُستَضِد antigen retrival بواسطة بروتين E3 المرتبط مع MIB1 "الذي يعتبر بمثابة حامل للواسم المناعي" (Colozza et al., 2005).

هناك توافُق جيِّد بين MIB1 والنسيلة الوحيدة الاصليَّة لـ Ki-67 (Querzoli et al., 1996) لذلك فإن القدرة الإنذاريَّة لـ MIB1 تم تقصِّيها في العديد من الدراسات الاستعاديَّة. كما تمَّت الإشارة إلى أضداد أُخرى مثل SP6 الذي له نَفس حاتِمَة epitope الـ MIB1، وقد استُعمِل بنجاح في العديد من الدراسات الحديثة (Niu et al., 2009) وساعد على تحسّين درجة الحساسيَّة للملوّن (Waga et al., 1994) ، (Zabaglo et al., 2010).

افترضت العديد من الدراسات أنَّ مُشعِر درجة الـKi-67 Labeling Index (LI) الذي يُساعد في تقدير طور النمُو الخلوي لهُ قيمة انذاريَّة في لمفوما لا هودجكن (Gerdes et al., 1984b) وقد اختُبرَت فائِدةُ تلك التعبيريَّة في العديد من التنشُّوؤات الوَرَميَّة. حيثُ أنَّ غياب بروتين Ki-67 في الخَلايا التي في حالة الراحة و تعبيريَّته في جميع الخَلايا المُتكاثِرة سواءً الطبيعيَّة منها أو الوَرَميَّة يجعل ضد Ki-67 أداة ممتازة لتحديد الجزء الذي يقوم بالنمُو والتَكاثُر في أي مجمَّع خُلوي (Alison, 1995).

تترافق تعبيريَّة Ki-67 مع المؤشرات النسيجيَّة الشائعة لسرَطان الثدي وهناك علاقة قويّة بين تعبيريَّة Ki-67 والدرجة النسيجيَّة وذلك لكون كلا المؤشرين يرتبط مع النمُو والتَكاثُر (Inwald et al., 2013). وبالمثل فإنَّ الدرجات العالية من الورم وحالة العُقد اللمفاويَّة تترافق مع نسب أعلى من الخَلايا التي تُعبِّر عن الـ Ki-67 (Inwald et al., 2013). وجدت النسب العالية من الـ Ki-67 في حالات استِعمار العقد اللمفيَّة بدرجة أعلى من أورام الثدي البدئيَّة (Buxant et al., 2002) (Park et al., 2007) وقد ارتبط ذلك أيضاً بمُعدَّل بقاء أقل (Tawfik et al., 2013). بناءً على هذِه النتائج فإنَّ استعمال مُشعِر الـ Ki-67 في العُقد اللمفيّة يُمكن أن يُساعد على اختيار المُعالجة المناسِبة لأنماط معيّنة من المرضى.

لُوحِظَت علاقة أُخرى بين حالة المُستَقبِلات الستيروئيديّة وتعبيريَّة الـ Ki-67 ، بشكل خاص مُستَقبِل الاستروجين ER الذي وجد بأنّهُ يرتبطُ عكسيَّاً مع تعبيريَّة Ki-67، وهذا يُشير إلى أنَّ الأورام ذات النشاط الانقسامي الأدنى تمتلك أعلى مستويات إيجَابيَّة لمُستَقبِل الاستروجين (Trihia et al., 2003)(Inwald et al., 2013).

أظهرت العديد من الدراسات بأنَّ الـ Ki-67 يمكن أن يكون واسِماً تشخيصيّاً و انذاريّاً فعالاً لمُعدَّل البقاء ونكس الورم في حالات سرَطان الثدي، وقد يعكس النشاط الانقسامي للورم بعد اختباره بتعبيريَّة الـ Ki-67 مدى عدوانيَّة الورم (Inwald et al., 2013)(Nishimura et al., 2010). يترافق ارتفاع مُشعِر تعبيريَّة Ki-67 مع انخفاض مُعدَّل البقاء (Nishimura et al., 2010)(Inwald et al., 2013).

الفصل الثالث: الآفات محتملة الخباثة الفموية oral precancerous lesions:

تكون الآفات محتملة الخباثة سريرياً على شكل آفات بيضاء أو حمراء أو مختلطة (بيضاء وحمراء). ذكر العديد من الباحثين أن النماذج الأكثر مشاهدة من الآفات محتملة الخباثة هي الطلاوة وفرط التصنع الأحمر والتليف تحت المخاطي والحزاز المنبسط. تراوح تحول هذه الآفات الى أورام خبيثة من نسب نادرة كما هو الحال في داء المبيضات البيض المزمن مفرط التصنعChronic hyperplastic candidosis الى نسب عالية الخطورة مثل فرط التنسّج الأحمر Erythroplasia (LIPPMANI and HONG, 1996).

3-1: تعريف الطلاوة Leukoplakia:

عرفت الطلاوة من قبل منظمة الصحة العالمية WHO بأنها مصطلح سريري فقط. ولايعبر عن مفهوم نسيجي يصف الآفات المتوضعة على الغشاء المخاطي على أنها لويحات بيضاء لايمكن تصنيفها سريريا أو امراضيا مع أي من الأمراض النوعية الأخرى. لذلك لا تشخص الطلاوة إلا بعد نفي جميع الأسباب والآليات المرضية الأخرى (Schepman et al., 1998).

جدول(1-2): تعريف الطلاوة البيضاء الفموية (Warnakulasuriya et al .,2007)

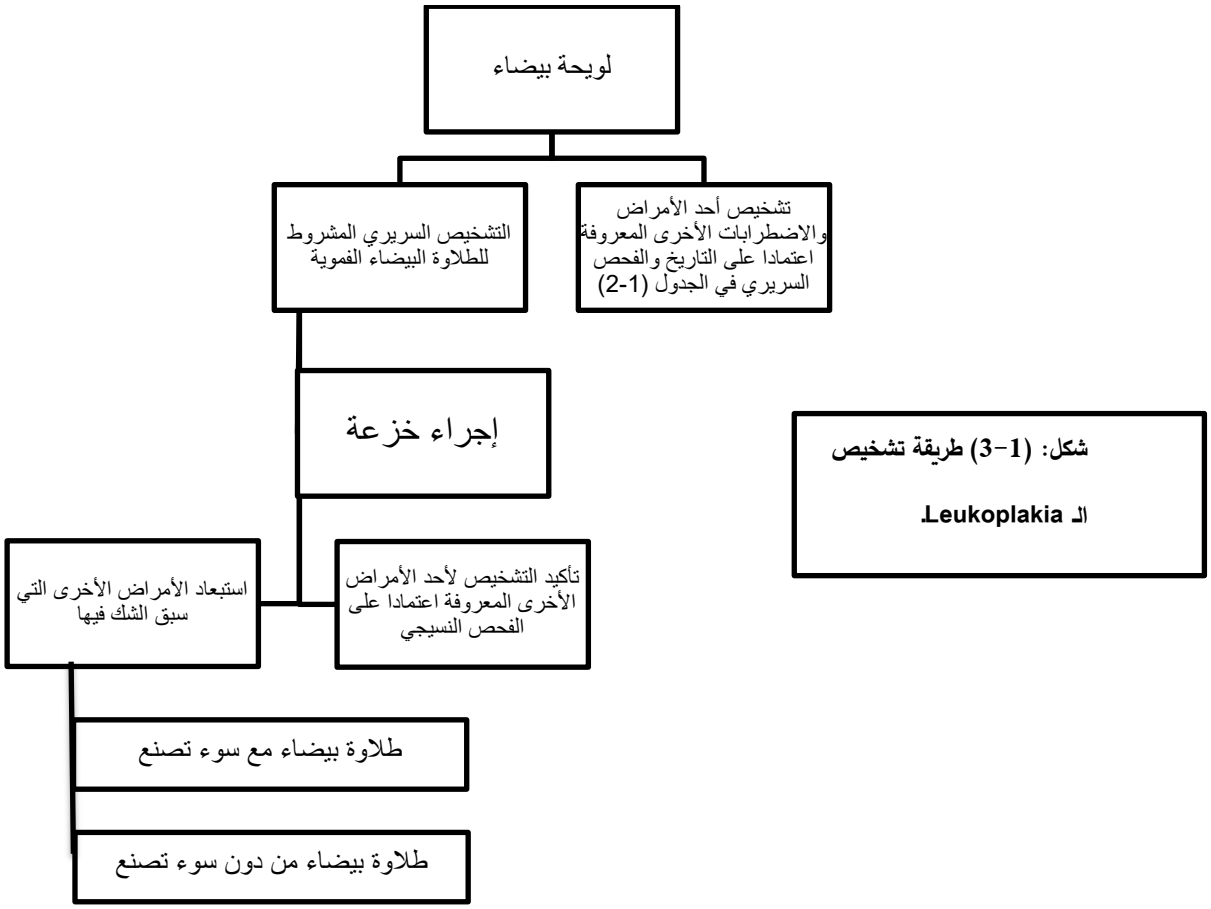
المؤتمر العلمي	التعريف	العام
WHO	لويحة أو لطاخة بيضاء لايمكن وصفها سريريا او نسيجيا كأي من الأمراض الأخرى	1978
المؤتمر الدولي الأول حول الطلاوة الفموية- السويد	لويحة أو لطاخة بيضاء لايمكن وصفها سريريا او نسيجيا كأي من الأمراض الأخرى وغير مقترنة مع أي عامل فيزيائي أو كيميائي مسبب باستثناء التدخين	1984
الندوة الدولية -السويد	آفة بيضاء شائعة تظهر على المخاطية الفموية لايمكن وصفها كأي من الأمراض الأخرى المعروفة	1996
WHO	آفة بيضاء شائعة تظهر على المخاطية الفموية لايمكن وصفها كأي من الآفات البيضاء الأخرى المعروفة	2005
Warnakulasuriya et al,	آفة بيضاء فموية مشكوك بخطورة تحولها السرطاني استبعدت من باقي الأمراض والاضطرابات المعروفة التي لاتحمل خطورة التسرطن	2007

جدول (1-2) تعريف الطلاوة الفموية

تعتبر الطلاوة الآفة محتملة الخباثة الأكثر شيوعاً في الحفرة الفموية وقد يتطور العديد منها الى سرطان بشروي شائك الخلايا.

سريريّاً: تكون الطلاوة غالباً على شكل لويحات بيضاء قاسية ملتصقة مرتفعة بشكل قليل عن المخاطية الفموية المحيطة. الموقع الأكثر عرضةً للإصابة بالطلاوة البيضاء هو المخاطية الدهليزية الخلفية ومنطقة المثلث خلف الرحوي وقاع الفم وأخيراً اللسان (Lee et al., 2000).

لايطلق التشخيص السريري Leukoplakia عادةً بالاعتماد على المظاهر التي يعرف بها بل بالاعتماد على استبعاد الأمراض الأخرى التي تظهر على أنها لويحات فموية بيضاء شكل (1-3)



شكل: (1-3) طريقة تشخيص الـ Leukoplakia

جدول(1-3) الأمراض الواجب استبعادها عند تشخيص الطلاوة البيضاء الفموية (Yang et al.,2012)		
المرض أو الآفة	**المظاهر السريرية**	**الخزعة النسيجية**
الوحمة الإسفنجية البيضاء	تصيب الأعمار الصغيرة، التاريخ العائلي، تصيب منطقة كبيرة، يمكن إصابة المخاطية التناسلية	غير مطلوبة
التقرن الاحتكاكي	قصة رض سابق، عادة بمستوى الاطباق، وجود مسبب للتخريش، عادة تشفى بعد ازالة السبب	تطلب بعد بقاء الآفة رغم إزالة السبب خاصةً عند المدخنين
الأذية الكيميائية	قصة مرضية، موقع الإصابة، زوالها سريع تلقائياً	غير مطلوبة
المبيضات البيض	زوال الغشاء الكاذب بالكشط وتترك سطحاً أحمر	لطاخة للزرع
الوذمة البيضاء	ثنائية الجانب على المخاطية الخدية تختفي أو تتكمش بتمديد الخد	غير مطلوبة
الحزاز المنبسط (النمط اللويحي)	يترافق مع أشكال أخرى شبكية، احتمال إصابة مناطق أخرى من جلد الجسم	مطلوبة
الذئبة الحمامية القرصية	آفة حمامية المركز ويشع منه خطوط بيضاء	مطلوبة
الطعم الجلدي	تاريخ سابق	غير مطلوبة
الطلاوة البيضاء المشعرة	تقرن ثنائي الجانب للسان	مطلوبة
الطلوان النيكوتيني	تاريخ التدخين لفترات طويلة، الحنك ذو لون أبيض مائل للرمادي	غير مطلوبة

3-2: أسباب الإصابة:

إلى الآن لم يعرف السبب الرئيسي وراء الطلاوة على الرغم من كثرة الفرضيات، وهي:

1- التدخين: إن عادة التدخين ذات صلة وثيقة بتطور الطلاوة، أكثر من 80% من المصابين مدخّنين، كما لوحظ تعدد الإصابة وزيادة حجمها عند المدخنين بكثرة (Heavy Smokers) ولسنوات عدّة عند مقارنته مع الأقل تدخيناً (Light

Smokers)، وان ايقاف التدخين قد يَشفي من الإصابة أو ينقص من حجمها خاصةً في السنة الأولى من الإقلاع عن التدخين (Garewal et al., 1990).

2- الكحول: للكحول تأثير مُؤازر للتدخين لإحداث السرطان الفموي ولاعلاقة له بالطلاوة والذين يستخدمون الغسولات الفموية بشكل مفرط مع الكحول يمكن إصابتهم أكثر بـ 25% بلويحات رمادية اللون على المخاطية الفموية للخد ولكنها لاتعتبر طلاوات حقيقية (Ankle et al., 2007).

3_ التخريش المزمن: تم تشخيص عدة طلاوات فموية وُجد في تاريخها الطبي رضّ سابق أو تخريش مستمر بعوامل مختلفة فيزيائية أو كيميائية (Ankle et al., 2007).

4_ بعض العضويّات الدقيقة: تتورّط عدّة عضويات دقيقة في إحداث الطلاوة:

- **اللولبية الشاحبة** Treponema Pallidum: تؤدي إلى حدوث التهاب اللّسان في المراحل المتأخرة من السفلس مع المعالجة الشائعة سابقاً بالزرنيخ أو بدونها قبل ظهور الصادات الحيوية، فيصبح اللسان صلباً مع ظهور طلاوة بيضاء حقيقية على سطحه. لكن مع وجود المعالجة الحديثة أصبح السفلس الثالثي نادر الحدوث.
- **المبيضات البيض** Candida Albicans: إصابة فطرية شائعة تستعمر الطبقة السطحية من الظهارة وتُحدِث لويحة ثخينة حقيقية وتُلوِن وتتلوَّن باللونين الأبيض والأحمر وتم استخدام مصطلحي الطلاوة بالمبيضات Candidal Leukoplakia وفرط التصنع الناتج عن المبيضات Candida Hyperplasia للدلالة على هذه الآفات، ولكن من غير المعروف أن هذه الفطريات تتسبب بسوء تصنع.

- **الفيروس الحليمي البشروي HPV:** وُجد في بعض الإصابات بأنواع محددة من HPV تطور طلاوة فموية حيث وجد الفيروس في الخلايا المخاطية الفموية المصابة (Bagan et al., 2004).

5_ بعض العوامل الوراثية والذاتية (Partridge et al., 2000).

6_ العوز الفيتاميني(Kashima et al., 1990).

7_ الاضطرابات الهرمونية(Bagan et al., 2011).

3-3: المشاهدات السريرية:

يوجد نمطان أساسيّان للطلاوة هما الطلاوة المتجانسة Homogeneous والطلاوة غير المتجانسة Non Homogeneous والتمييز بينهما سريريٌّ فقط يعتمد على لون السطح وثخانة الآفة وصفاتها الشكلية والبنيوية، ويضاف لهما الطلاوة الحمراء.

1. الطلاوة المتجانسة: مسطحة ورقيقة وتبدي شقوقاً ضحلة وخطورة التحول السرطاني لها تكون منخفضةً نسبياً.
2. الطلاوة غير المتجانسة: والتي تحمل خطورةً أعلى بكثير للتحول السرطانيّ، وتعرَف بالطلاوة البيضاء الحمراء Erythroleukoplakia وتظاهراتها تتضمن:

- الطلاوة المرقّطة Speckled بالأبيض والأحمر ولكن معظمها يميل للون الأبيض.
- الطلاوة العُقدية Nodular تكون على شكل اندفاعات صغيرة محاطة بزوائد بيضاء أو حمراء.
- الطلاوة الثؤلولية Verrucous ذات سطح مجعّد أو متموّج.

- الطلاوة الثؤلولية المتكاثرة proliferative verrucous leukoplakia: وتتظاهر على شكل طلاوات متعددة في وقت واحد أي أنها آفة متعددة البؤر عادةً تغطي منطقة واسعة.

3. الطلاوة الفموية الحمراء Erythroplakia: أعتُبرت الطلاوة الحمراء لفترة طويلة أهم آفات المخاطية الفموية ماقبل السرطانية وذات الإحتمالية الأعظم للتحول الخبيث ولم يتغير تعريفها منذ عام 1978م حيث وُضع التعريف من قبل منظمة الصحة الفموية ومازال يستخدم حتى الآن وهو " لطاخة حمراء اللون لايمكن وصفها سريرياً أو نسيجياً كأيّ من الآفات الحمراء الأخرى المعروفة "، وعادة ماتكون لاطئة مسطحة وذات سطح أملس أو حبيبي، وأثناء التشخيص يجب استبعاد كل الأمراض والإضطرابات الفموية الأخرى المشابهة، والخزعة أساسية في تشخيص الطلاوة الحمراء، وفي معظم آفات الطلاوة الحمراء وجد سوء تصنع

.(van der Waal, 2015)

3-4: المشاهدات النسيجية:

يختلف الشكل النسيجي للطلاوة من آفة لأخرى. تتراوح ثخانة البشرة من بشرة سماكتها أقل من البشرة الطبيعية، كما هو حالة الآفات الضامرة، الى أثخن منها كما هو الحال في الشواك Acanthosis.

لاتبدي معظم الآفات علامات سوء التصنع، انما تبدي بعض هذه الآفات علامات سوء تصنع متفاوتة، وقد ذكرت العديد من الدراسات أن الخلايا التي تعاني من سوء تصنع تحث

على حدوث ردّ فعل مناعي مؤلفٍ من رشاحةٍ خلويةٍ لمفيةٍ مصورية، وذلك في النسيج الضام المُتاخم للبشرة المريضة (van der Waal, 2015).

يتضمن وجود سوء التصنع زيادة الانقسامات الخيطية الطبيعية ووجود أشكال إنقسامية غير طبيعية، وحدوث سوء تقرن ووجود تقرن مفرد لخلية واحدة أو مجموعة من الخلايا ضمن طبقة الخلايا الشائكة، وفقدان الالتصاق بين الخلويّ، واختلاف نسبة الهيولى الى النواة مع فقدان القطبية الخلوية وتبدل التوجّه الخلوي، وفرط الكروماتين النووي وتعدد أشكال النواة وتوسّع ووضوح النويّات، وحدوث فرط تصبغ بطبقة الخلايا القاعدية ووجود شكل بصلي أو إصبعي للامتدادات الإصبعية.

ان من عوامل الخطورة التي تؤثر على التحول الخبيث للطلاوة مايلي:

1- حدوث الطلاوة دون عامل مؤهب واضح.

2- إصابة قاع الفم واللسان.

3- الشكل السريري غير المتجانس.

4- وجود سوء تصنع بشروي شديد (Yanik et al., 2015).

توجد الطبقة المتقرنة على سطح الآفة وتتراوح بين فرط نظير التقرن وفرط التقرن الكامل والقرنين هو المسؤول عن إعطاء الآفة اللون الأبيض الوصفي.

تبدي البشرة طبقة الخلايا الحبيبية في حالة التقرن الكامل، ولانرى النوى في الطبقة المتقرنة. أما في حالة نظير التقرن فتغيب عندها طبقة الخلايا الحبيبية وتكون النوى موجودة في الطبقة الخلوية الأخيرة (Padayachee et al., 2012).

الفصل الرابع: سوء التصنع البشروي الفموي (OED):

4-1: تعريف سوء التصنع البشروي الفموي:

Dysplasia هو مصطلح من مقطعين dys- وتعني سيئ أو غير طبيعي وplasia وتعني النمو أو التصنع (Warnakulasuriya et al., 2008).

وُضع مصطلح الـ Dysplasia من قبل Reagan في عام 1958 للدلالة على الخلايا التي تتوسف من آفات عنق الرحم والتي تنذر بالتغيرات ماقبل السرطانية، وقام بتعريفه على أنه آفة ماقبل سرطانية في البشرات الشائكة المطبقة تتظاهر بالشذوذات الخلوية وفقدان النضج والتطبق الطبيعيين (Reagan, 1958).

واستُخدمت سابقاً المصطلحات (سوء التصنع البشروي Epithelial Dysplasia) و(الشذوذ الظهاري Epithelial Atypia) و(سوء التقرن Dyskeratosis) كمرادفات لسوء التصنع Dysplasia.

وعرّف Pindborg (1977) سوء التصنع البشروي على أنه مصطلح يستخدم للدلالة على الأفات التي تستبدل فيها الخلايا الظهارية في أي جزء من ثخانة الظهارة بخلايا تبدي درجات مختلفة من اللانمطية الخلوية (Pindborg, 1955).

وعرَف Lumermann وزملاؤه (1995) سوء التصنع البشروي الفموي على أنه مصطلح تشخيصي يصِف التغيرات النسيجية التي تحدث في الإضطرابات ماقبل السرطانية المزمنة والمترقية للمخاطية الفموية (Lumerman et al., 1995).

4-2: المظهر السريري لسوء التصنع البشروي الفموي:

لايرتبط سوء التصنع البشروي الفموي بمظهرٍ سريريٍّ محدد، لكن غالباً ما يعتبره الباحثون أنه الانعكاس النسيجي لكل من الطلاوة البيضاء leukoplakia والطلاوة الحمراء erythroplakia، كما أنه يشاهد دائماً في المخاطية الفموية المجاورة للسرطان شائك الخلايا الفموي، وكما هي الحال في معظم الآفات البيضاء ينتج اللون السريري عن طبقة الكيراتين السطحية المتسمكة والتي تبدو باللون الأبيض (Lee et al., 2000).

4-3: المظهر النسيجي لسوء التصنع البشروي الفموي:

يُطلق مصطلح سوء التصنع على الحالة التي تظهر فيها اضطرابات البنية النسيجية للظهارة مترافقة مع لانمطية خلوية، وقد أدرجت المعايير المستخدمة لتشخيص سوء التصنع البشروي الفموي في الجدول (1-4) حيث قسّمت هذه المعايير الى تغيرات بنيوية في الظهارة (التطبق) وتغيرات خلوية (اللانمطية) (Barnes et al., 2005a).

جدول (1-4) المعايير المستخدمة في تشخيص سوء التصنع الفموي (Barnes et al., 2005)

تغيرات بنيوية	تغيرات خلوية
التطبق الظهاريّ غير منتظم	تغيرات شاذة في حجوم النوىanisonucleosis
فقدان قطبية الخلايا القاعدية	تعدد أشكال النوى nuclear pleomorphism
فرط تصنع الخلايا القاعدية	تغيرات شاذة في حجوم الخلايا anisocytosis
امتدادات إصبعية ذات شكل مغزلي	تعدد أشكال الخلايا cellular pleomorphism
زيادة أعداد المغازل الفتيلية	زيادة نسبة النواة الى الهيولى
انقسامات فتيلية سطحية غير طبيعية	أشكال فتيلية لانموذجية
تقرن غير ناضج في خلايا مفردة (سوء تقرن)	زيادة عدد النويات وحجومها
لآلئ كيراتينية ضمن الحليمات البشروية	زيادة كثافة النواة Hyperchromasia

4-4: تصنيف آفات سوء التصنع البشروي الفموية:

يفيد تصنيف الأمراض بشكل عام في تسهيل تشخيصها وتحديد إنذارها وبالتالي تبني الطريقة المثلى للعلاج، وإن طريقة تصنيف آفات الحفرة الفموية تعتمد على المظهرين السريريّ والنسيجيّ. ورد سابقاً التصنيف السريري للآفات الحاوية على سوء تصنع اعتماداً على تجانسها وشكلها، أما فيما يخص تصنيف سوء التصنع البشروي الفموي نسيجياً فيصنف حسب شدة الإصابة الى خفيفة ومتوسطة وشديدة وذلك تبعاً لتعدد وبروز معايير سوء التصنع في الصورة النسيجية للآفة، وتوصف ملامح سوء التصنع البشروي في البشرات المطبقة بأنها لانمطية خلوية وفقدان النضج والتطبق الطبيعيين، ومع زيادة شدة هذه الملامح تزداد شدة سوء التصنع كما تزداد أرجحية التحول الخبيث، ولكن هذا لا ينفي إمكانية التحول الخبيث لبعض الآفات التي لاتحوي علامات سوء التصنع (Speight, 2007).

لكن سوء التصنع كمصطلح يعكس طيفاً من التغيرات وليس مراحل منفردة قابلة للتمييز، لذا فمن المؤسف الاعتراف أن نظام التصنيف النسيجي للآفات ماقبل السرطانية غير مكتمل حتى الآن ولايمكن الجزم من خلاله في إمكانية التحول السرطاني للآفات الفموية المختلفة، ولكن في الوقت نفسه لايمكن الاستغناء عنه خلال التشخيص الذي يعتبر شرطاً أساسياً في التوجه نحو العلاج ذي الإنذار الأفضل، وبالتالي يكون نظام التصنيف لآفات سوء التصنع البشروية الفموية هو نظام للتنبؤ بالتحول للخباثة فقط وليس للبتّ فيه (McCullough et al., 2002).

قُدمت الكثير من أنظمة التصنيف لجعل تقييم شدة سوء التصنع ذا قيمة حيوية وذا معايير قياسية تُغني عن التناقض بين الباحثين والمؤلفين وتجعل التنبؤ بالاحتمالية السرطانية أكثر دقّة (الجدول 1-5).

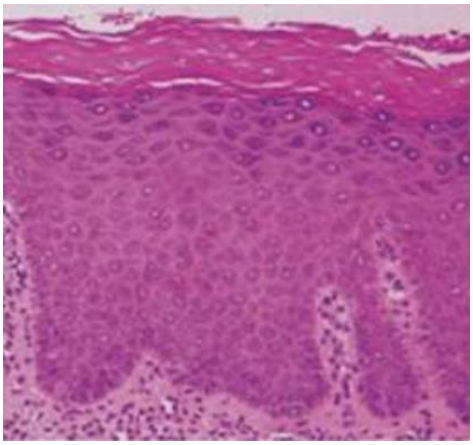
جدول (1-5): تصنيفات سوء التصنع البشروي المتبعة (Brennan et al., 2013)			
Smith and Pindborg	**1971**	Neville et al	**1995**
Mehta et al	**1976**	Speight PM et al	**1996**
Bancozy and Csiba	**1978**	Kuffer and Lombardi	**2002**
WHO	**1978**	Ljubljana	**2003**
Kramer	**1980**	Brothwell DJ	**2003**
Burkhardt and Maerkar	**1981**	Binary System	**2005**
Shafer	**1983**	WHO System	**2005**
Lumermann H et al	**1995**		

4-5: تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO 2005:

وفقاً للنسخة الأخيرة من تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO لأورام الفم والبلعوم الفموي لعام 2005م فإن مصطلح سوء التصنع البشروي هو تشخيص يطلق على وجود علامات نسيجية وخلوية محددة وهذا التشخيص يعكس طبيعة الآفة من حيث أرجحية تحولها للخباثة (Ehrenkranz et al., 2005).

فرط التقرن (التقران) (keratosis or hyperkeratosis)

فرط التقرن هو عبارة عن زيادة في ثخانة الطبقة المتقرنة أو نظيرة التقرن في الظهارة، وإن

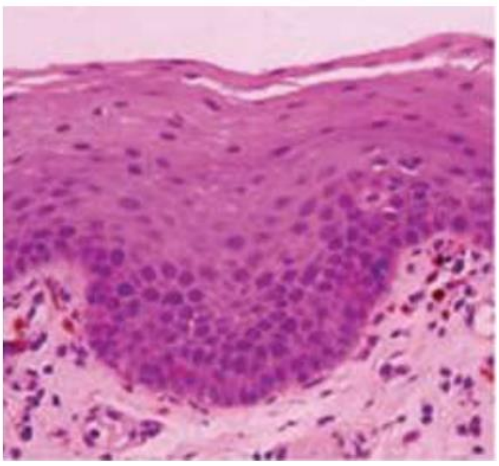


شكل (1-4) فرط التقرن في البشرة

معظم آفات سوء التصنع البشروي تبدي ميلاً لتشكل نظير القرنين parakeratinization والذي بدوره يعكس الشذوذ في نضج الخلايا، وليس مستبعداً في الحفرة الفموية أن تشاهَد نسيجياً بؤر من سوء تصنع تفصل بينها مساحات واسعة من الخلايا الطبيعية ولكن لايؤخذ التقرن المتزايد على محمل الأهمية في التنبؤ بإنذار سوء التصنع، لكنها تؤخذ بعين الإعتبار في كل التصنيفات المتبعة لسوء التصنع من حيث البنية النسيجية والبنية الخلوية.

(Caccetta et al., 2012)

فرط التصنع Hyperplasia:



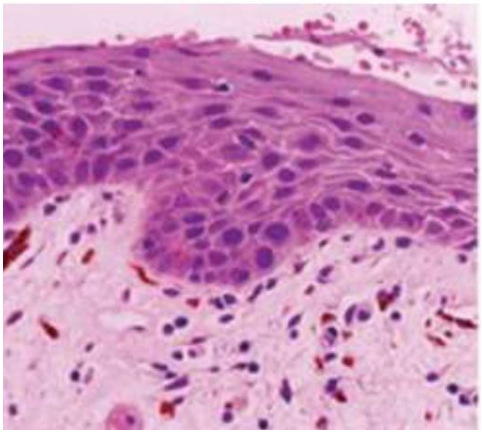
الشكل (1-5) فرط التصنع البشروي القاعدي

هو زيادة أعداد الخلايا في الطبقة الشائكة مما يؤدي الى حدوث الشُّواك، أما في طبقة الخلايا القاعدية أو المجاورة لها يسمى فرط تصنع الخلايا القاعدية يكون تطبق الخلايا بالشكل الطبيعي ولا وجود للانمطية الخلوية (Wang et al., 2011).

درجات سوء التصنع البشروي Grades of dysplasia:

سوء التصنع البسيط Mild dysplasia:

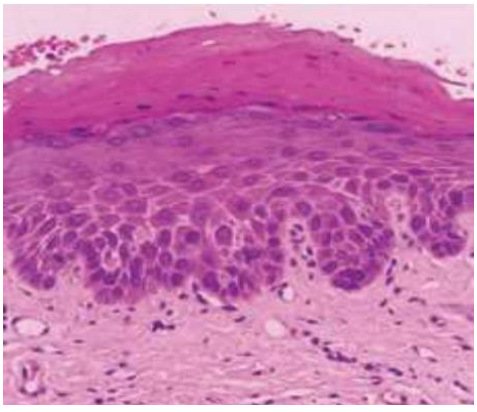
تبدو فيه الاضطرابات البنيوية محدودة بالجزء القاعديّ من الظهارة مترافقة مع الحد الأدنى من اللانمطية الخلوية، أي تبدو علائم سوء التصنع بالحدود الدنيا. حيث يمكن ملاحظة القليل من الشذوذات النووية قرب القاعدية في حين أن باقي الخلايا تكون طبيعية ناضجة وتبدي تطبقاً طبيعياً، ويلاحظ وجود بعض الانقسامات قرب الطبقة القاعدية أيضاً ولكنها غير شاذة (Dionne et al., 2015).



الشكل (1-6) يمثل سوء التصنع البسيط

سوء التصنع المتوسط Moderate dysplasia:

يمتد فيه الاضطراب البنيوي الى الثلث المتوسط من الظهارة وهذا المعيار الأساسي في تمييز هذا المستوى من سوء التصنع، ثمّ تؤخذ اللانمطية الخلوية بعين الاعتبار، حيث تشاهد شذوذات نووية أكثر تعدداً ووضوحاً في الثلثين القاعديين من الظهارة وتكون الخلايا ناضجة وذات تطبق طبيعي في الثلث السطحي منها، كما يلاحظ وجود بعض الانقسامات قرب

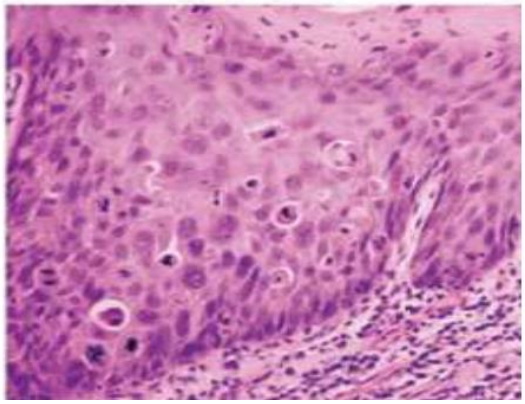


شكل (1-7): سوء تصنع متوسط في البشرة الفموية

القاعدية، وتقل باتجاه الطبقة المتوسطة، ولكنها انقسامات غير شاذة (Warnakulasuriya et al., 2008).

سوء التصنع الشديد Severe dysplasia:

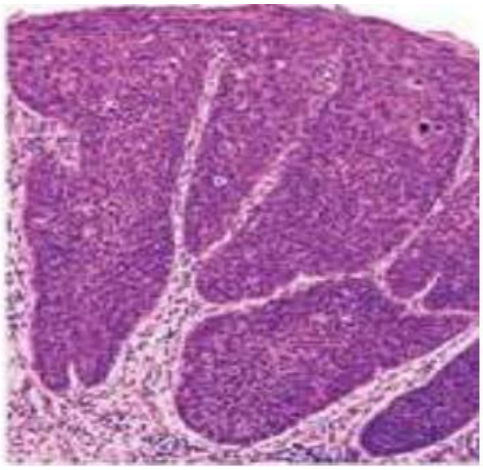
تكون فيه الاضطرابات البنيوية ممتدة لأكثر من ثلثي الظهارة، مترافقة مع لانمطية خلوية واضحة حيث تشاهد الشذوذات النووية ممتدة لتشمل كامل طبقات الظهارة، ويلاحظ زيادة الانقسامات الفتيلية منها الطبيعية ومنها الشاذة وقد تصل هذه الانقسامات الى الطبقات السطحية. وتعدد أشكال الخلايا وفقدان القطبية في الطبقة القاعدية، وبالإضافة لذلك يمكن أيضاً مشاهدة الخلايا الناضجة وذات التطبق الطبيعي في الأجزاء السطحية من طبقات الظهارة (Warnakulasuriya et al., 2008).



الشكل (1-8) سوء تصنع شديد في البشرة الفموية

السرطان البشروي الموضع Carcinoma in situ:

تتشابه الكارسينوما الموضعة في المظهر مع سوء التصنع الظهاري الشديد وبعض المراجع



الشكل (1–9) سرطان موضع في البشرة الفموية

لا تحاول التمييز بين الحالتين، حيث تمتد فيه علائم سوء التصنع البشروي على كل الظهارة من الاضطرابات البنيوية التي تتجلى بالتطبق الشاذ، وعدم القدرة على تمييز الطبقات. وتبدي الخلايا علائم الكشم الخلوي كما في السرطان شائك الخلايا لكن دون غزو فهي خلايا بدئية غير متمايزة. نظرياً إن السرطان البشروي الموضع هو بداية التحول نحو الخباثة ونهاية طيف العلامات الفارقة لسوء التصنع (Muto et al., 2004).

جدول (1–6): تصنيف WHO لسوء التصنع البشروي الفموي (Barnes et al., 2005a)

الدرجة	مستوى التغير	التغيرات الخلوية	التغيرات البنيوية
فرط التقرن	الطبقة السطحية	لايوجد	زيادة القرنين والخلايا الناضجة الطبيعية
فرط التصنع	الطبقة القاعدية	لايوجد	ظهارة متسمكة فرط التقرن والنضج طبيعي
سوء التصنع البسيط	الثلث القاعدي	تعدد الأشكال الخلوية والنووية زيادة اصطباغ النواة	فرط تصنع الطبقة القاعدية
سوء التصنع المتوسط	حتى الثلث المتوسط	تعدد الأشكال الخلوية والنووية تفاوت حجوم النوى والخلايا زيادة اصطباغ النوى زيادة الأشكال الفتيلية غير الطبيعية	فقدان القطبية اضطراب في نضج الخلايا من الطبقة القاعدية حتى الشائكة امتدادات اصبعية مغزلية الشكل فرط تصنع الطبقة القاعدية زيادة كثافة الخلايا

سوء التصنع الشديد	حتى الثلث السطحي	تعدد الأشكال الخلوية والنووية تفاوت حجوم النوى والخلايا زيادة اصطباغ النوى ازدياد الأشكال الفتيلية غير الطبيعية زيادة حجوم النوى والخلايا زيادة أعداد وحجوم النويات	اضطرابات النضج من الطبقة القاعدية الى الشائكة فرط تصنع الطبقة القاعدية زيادة كثافة الخلايا سوء تقرن (تقرن غير واضح) لآلئ كيراتينية في عمق الظهارة انحلال الأشواك
السرطان الموضع	كامل سماكة الظهارة	كل التغيرات ممكنة	تغيرات من الطبقة القاعدية الى السطحية فقدان التطبق

جدول (1-6) تصنيف منظمة الصحة العالمية

4-6: مساوئ نظام التصنيف WHO:

على الرغم من قبول معظم المشرحين المرضيين بنظام التصنيف WHO وابداء ثقتهم به، إلا أنه وجد الكثير من التفاوت في تقييمهم وتفسيرهم لوجود كل من المعايير التي يبنى عليها نظام WHO ودرجتها وأهميتها. فقد بينت بعض الدراسات الفروق والمتغيرات العديدة في تقييم وجود سوء التصنع البشروي الفموي أو غيابه وفي تقدير درجته، وهذه الفروق سواء بين مشرح مرضي وآخر أو لدى المشرح المرضي نفسه من مرة لأخرى Inter- and intra- examiner variability ، قد يعود ذلك لأسباب متنوعة منها الأجهزة والمواد المستخدمة أو الحالة الجسدية والنفسية للمشرح المرضي. فقد قامت بعض الدراسات بتحري التوافق بين المشرحين المرضيين في تقييم درجة سوء التصنع البشروي الفموي عبر اختبارات احصائية مختلفة، وتوصلت الى وجود توافق ضعيف الى متوسط بينهم، وبينت أيضاً أن نسبة التوافق لم ترتفع بمعرفة كل منهم بالمعلومات السريرية. وأن وجود الالتهاب في الآفات خفضت نسبة التوافق على درجتها.

حاولت الدراسات الأخيرة اختبار مصدر الاختلافات التي تنشأ بين المشرحين المرضيين فيما يتعلق بتشخيص معايير سوء التصنع التي أُدرجت في الجدول (1–4)، وقد وجدت أعلى درجات التوافق في تمييز كل من: تزايد المغازل الفتيلية – زيادة حجم النواة – التعدد الشاذ في أشكال الخلايا. وفي المقابل وجدت أعلى درجات الاختلاف في تمييز كل من التطبق الظهاري الشاذ – فقدان قطبية خلايا الطبقة القاعدية – المغازل الفتيلية الشاذة – فرط التصبغ (Ehrenkranz et al., 2005).

الفصل الخامس: التَنَشُّؤ الورمي والسرطان:

جزيئياً السرطان هو انتاج شاذ لخلايا طافرة بسبب تراكم التغيرات المورثية المتعاقبة، وقد سمي السرطان بهذا الاسم لأن كتل الخلايا الورمية ذات امتدادات متغلغلة في النسج بشكل يشبه أذرع حيوان السرطان (Freifeld et al., 2011).

يُعرّف الورم بأنّه: تَكاثُر خلوي غير وظيفي يَستمِر بالحُدوث حتّى بعد زوال العامل المُسبِب، يَحدُث على حِساب النسج التي استطاعَت خلاياها الهروب من رَقابة وضبط الانقِسام، تحت تأثير عَوامِل مُحرِّضة أثَّرت مورِّثيًّاً بهذِه الخَلايا مما جعلها تَتظاهرُ نسيجيًّاً بدرجات متنوِّعة، كما يُمكن لهذِه الخَلايا المُتكاثِرة في الأورام الخَبيثة أن تَغزو النسج المجاوِرة وأن تَنْتَقِل أيضاً لتَسْتَعمِر في أماكن أخرى (Underwood, 2004). كما يُعرّف الورم أو السرَطان بأنّه تكاثُر خلوي غير مُسَيطر عليه ينمو بشكلٍ دائم دون اتّساق مع النسج المجاورة الطبيعيَّة و يستمرُّ بذلك السُلوك حتّى بعد زوال العامِل المُسبِّب(KUMAR and ROBBINS, 2007). ويُعزى تشكّل الأورام والسرَطانات إلى التفاعُل بين المنظومة المورِّثيّة للشخص

وبين ثلاث مجموعات سببيّة هي: العَوامِل المُسرطِنة الفيزيائيَّة، والعَوامِل المُسرطِنة الكيميائيَّة، والعَوامِل المُسرطِنة الحيويّة أو البيولوجيّة.

5-1: السرطان شائك الخلايا للرأس و العنق head and neck squamous cell carcinoma:

ورم بشروي خبيث ينشأ على حساب الخلايا الحرشفية (الشائكة) squamous cells، يرمز له حسب منظمة الصحة العالمية للأورام بـ ICD-O 8070/3.

قُدرت نسبة الإصابة بسرطانات الرأس والعنق حول العالم بنصف مليون إصابة سنوياً مما يجعله السرطان السابع شيوعاً بين مجمل السرطانات، وتتنبئ الاحتمالات بازدياد الإصابات لحوالي مليون إصابة، وازدياد الوفيات بهذا السرطان لحوالي نصف مليون حالة وفاة مع قدوم سنة 2020 (Slevin et al., 2015).

تختلف نسبة الإصابة بين الجنسين ونسب الانتشار بين البلدان باختلاف مكان السرطان في سرطانات الرأس والعنق، إلا ان معدل إصابة الذكور غالباً ماتكون أعلى فهي 1.50:1 في سرطان شائك الخلايا في الحفرة الأنفية و1:2 في الرغامى وفي الحفرة الفموية، في حين ان نسبة الإصابة تتساوى بين الذكور والإناث في سرطانات البلعوم الأنفي.

كما تختلف نسب الانتشار بين البلدان باختلاف مكان الاصابة، فالسرطان شائك الخلايا في الحفرة الأنفية والبلعوم الأنفي أكثر انتشاراً في المنطقة الآسيوية في حين تُعدّ كل من فرنسا والجزء الغربي لسويسرا وشمال إيطاليا وشرق اوروبا وجزء من أمريكا اللاتينية أكثر المناطق إصابةً بالسرطان شائك الخلايا الفموي (Slevin et al., 2015).

يُشَكِّل السرَطان الفَموي شَائِك الخَلايا 95% من السرَطانات الفَمَويَّة في الهند (Krishna et al., 2014) وعامل الخطورة الأهم لحدوث هذا الورم هو مضغ التبغ ثمَّ إدمان الكحول (Zaid, 2014) وقد تبين مؤخراً وجود دور للإصابة بالإنتان الناجم عن الفيروس الحليمي البشروي HPV والحمية الغذائيَّة التي تفتقر إلى الفواكه والخضراوات الطازجة (Sasaki et al., 2015) .

5-2: المظاهر السريرية لـ OSCC:

تعتبر الشفة السفلية أكثر الأماكن عرضة للاصابة بالـ OSCC، أما داخل التجويف الفموي فتكون أغلب الإصابات في الجزء الأسفل من الفم خاصة عند الحواف الجانبية للّسان والمنطقة المجاورة لها من قاع الفم والجزء اللساني للحواف السنخية.

تظهر الآفة في المراحل المبكرة على شكل لويحات مبرقشة بيضاء أو حمراء بما يشبه الشكل السريري للآفات محتملة الخباثة، ثم تتطور الآفة لتتحول الى عقيدات قاسية وثابتة بسبب التليف وحدوث الارتشاح الالتهابي في العمق، ومن ثم تتعرض هذه العقيدات الى التقرح وتصل الآفة الى شكلها النموذجي الذي هو عبارة عن قرحة غير مؤلمة ذات حواف مرتفعة مدورة وقاسية وثابتة مع الانسجة المجاورة **(Hinther et al., 2016)**.

يتظاهر السرطان شائك الخلايا بعدة أشكال سريرية:

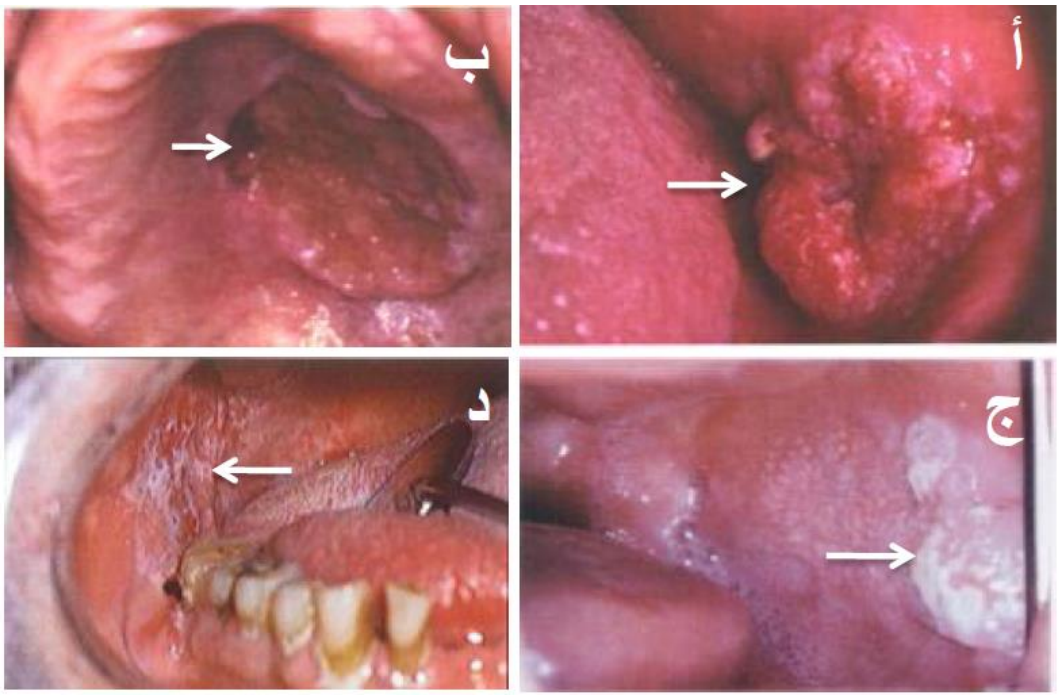
على شكل بروز خارجي exophytic ذا شكل حليمي أو ثؤلولي.

على شكل انغماد داخلي endophytic.

على شكل لويحات بيضاء مثل الطلاوة leukoplakia.

على شكل تنسج أحمر Erythroplakia.

على شكل طلاوة مبرقشة erythroleukoplakia.



الشكل (1-10) الأشكال السريرية للسرطان شائك الخلايا

: أ-بروز خارجي، ب-انغماد داخلي، ج-لويحات بيضاء مثل الطلاوة، د-طلاوة مبرقشة

أما بالنسبة لأعراضه فتتراوح بين الشديدة والخفيفة تبعاً لمكان الاصابة، وأهم الأعراض هي: في الإصابات الأنفية: الشعور بانسداد أنفي ، رعاف، سيلان أنفي، ألم، خدر، انتباج في الخد أو الحنك أو الأنف، قرحة معنّدة على الشفاء، جحوظ أو شفع أو دمع في الحالات المتقدمة. يضاف على هذه الأعراض في إصابات البلعوم الأنفي اضطرابات في الكلام والبلع ونقص في الوزن وقد تصل الأعراض في الحالات المتقدمة الى الصمم والتهاب الجلد والعضلات Dermatomyositis. تترافق إصابات الحنجرة ولسان المزمار والرغامى مع بحّة في الصوت، واضطرابات في التصويت، وشعور بجسم أجنبي في الحلق، نفث دم، سعال، اضطراب تنفسي، وزيز (Birkeland et al., 2015).

في الإصابات الفموية نشاهد تقرحاً – ألماً (قد يتشعع للأذن) – رائحة كريهة – صعوبة في النطق وفي فتح الفم وفي المضغ وفي البلع مع أو بدون ألم – نزف–نقصان في الوزن – انتباج رقبي. ونادراً مايظهر لدى المريض تضخم عقد رقبية من دون الأعراض السابقة. تترافق سرطانات الفم بتمدد للبنى المجاورة للسرطان كتمدد عظمي وعضلي وجلدي، وقد تترافق باضطرابات إطباقية، ويسبب سرطان اللسان كبير الحجم اضطراباً في حركيته، وتسبب الحالات المتقدمة في سرطانات قاع الفم سيلان لعابي drooling (Chen et al., 2016).

في حين تترافق اصابات الغدد اللعابية مع ازدياد حجمي واضح وضعف في العصب الوجهي، أما إصابات الأذن فتترافق مع ألم ونقص سمع وتقيّح ونزف بالنسبة للأذن الخارجية وقد تترافق مع تصريف مصلي دموي في إصابات الأذن الوسطى ويعتبر النبض العصبي العرض الأهم لاصابتها (Yang et al., 2009).

3-5: المشاهدات النسيجية للـ OSCC:

يتصف الـ OSCC نسيجياً بتكاثر واجتياح الخلايا البشروية الخبيثة "التي تختلف شكلياً عن الخلايا البشروية السليمة " بعمق الأنسجة المجاورة وضمن العضلات القريبة وكذلك الأعصاب والأنسجة الغدية وقد تجتاح النسيج العظمي على شكل حبال أو جزر بشروية منفصلة. تكون هيولى الخلايا البشروية الخبيثة ايوزينية اللون مع نوى متسعة تعاني من تزايد النسبة النووية السيتوبلاسمية ويعتبر القرنين المنتج الطبيعي لهذه الخلايا وقد يشاهد وجود تقرن مفرد لبعض الخلايا. تصنف السرطانات البشروية شائكة الخلايا الى ثلاث درجات أو أربع درجات حيث تكون الأورام الأقل تمايزاً الأكثر درجةً (Hinther et al., 2016).

5-4: تصنيف السرطان شائك الخلايا في الفم حسب الدرجة السريرية والنسيجية:

5-4-1: حسب الدرجة السريرية Grade Classification:

تعتمد درجة الورم سريرياً على ثلاثة معطيات:

T(tumer size) = حجم الورم والذي يختلف تقديره باختلاف مكان الإصابة .

N(lymph node involvement)= انتشاره للعقد اللمفية.

M(metastases) = الاستعمار للمناطق البعيدة ، والتي رمزت كما في(الجدول 1-7).

T حجم الورم	التصنيف
X	لم يحدد إن كان سرطان أو أولي
0	ليس سرطان
Is	سرطان موضع أولي
1	أولي قطره الأعظمي 2سم أو أقل
2	قطره الأعظمي بين 2-4 سم
3	قطره الأعظمي أكثر من 4 سم
4a	يغزو العظم القشري، العصب السنخي الأمامي قاع الفم، أو جلد الوجه، أو عضلات اللسان العميقة أو الجيب الفكي
4b	يغزو المسافة الماضغة أو الصفيحة الجناحية أو قاعدة الجمجمة أو يحيط بالشريان السباتي الأمامي
N انتشاره للعقد اللمفاوية	التصنيف
x	لم يحدد أو لم يستطع التأكد
0	لايوجد انتشار
1	انتشار لعقدة واحدة بنفس الجانب الاصابة بقدر أعظمي أقل من 3 سم

2a	انتشار لعقدة واحدة بنفس جانب الاصابة بقطر أعظمي بين 3-6 سم
2b	انتشار لعقدة واحدة بنفس جانب الاصابة بقطر أعظمي 6-3سم
2c	انتشار ثنائي الجانب أو معاكس لجهة الاصابة بقطر أعظمي لايزيد عن 6سم
3	انتشار لعقدة بقطر أعظمي يزيد عن 6 سم
M الاستعمار	التصنيف
x	يوجد ولم يحدد
0	لايوجد
1	يوجد ومحدد

جدول(1-7) رموز معطيات درجة الورم السريرية في السرطان شائك الخلايا الفموي.(Cubilla et al., 2018)

وبالتالي صُنّف السرطان شائك الخلايا حسب الدرجة السريرية الى أربع درجات موضحة بالجدول(1-8).

الدرجة	T	N	M
I	1	0	0
II	2	0	0
III	3	0	0
	1/2/3	1	0
IV	4a/b	0/1	0
	1/2/3/4a	2	0
	مهما تكن	3	0
	مهما تكن	مهما تكن	1

الجدول(1-8) تصنيف السرطان شائك الخلايا حسب الدرجة السريرية

لابد من الإشارة إلى أن النقائل العقدية تحدث في 60% من مرضى سرطان شائك الخلايا في الرأس والعنق في حين أن الاستعمارات البعيدة المدى تحدث في 25 % من مرضى السرطان والتي غالبا تكون في الرئة والعظم والكبد (Cubilla et al., 2018).

2-4-5: التصنيف حسب الدرجة النسيجية Grade Classification:

ينشأ السرطان شائك الخلايا SCC من سطح بشرة مصابة بسوء تصنع، ويميز نسيجياً بواسطة جزر وحبال الخلايا الحرشفية السرطانية الغازية، حيث يظهر الغزو على شكل امتداد غير نظاميّ لبشرة الآفة عبر الغشاء القاعديّ وعبر النسيج الضام تحت البشرويّ، وبالتالي تظهر الخلايا الحرشفية سواء كانت مفردة أو ضمن جزر كوجود مستقلّ ضمن النسيج الضام، كما توجد غالباً استجابة خلوية التهابية أو مناعية ضد البشرة الغازية، كما قد تظهر مناطق تنخر بؤرية (Cubilla et al., 2018).

أما خلوياً فتظهر علامات الكشم الخلوي أو عدم التصنع الخلوي anaplsia في الخلايا السرطانية والتي هي: اللانمطية الخلوية cellular atypia من زيادة حجم الخلايا والنوى والنويات، ومن زيادة نسبة حجم النواة للهيولى، ومن فرط تصبغ النوى، ومن خلل في التقرن، ومن زيادة الفاعلية الانقسامية، بالإضافة للانمطية فتظهر علامات كشم أخرى من تعدد الأشكال الانقسامية، وفقدان قطبية الخلايا القاعدية، وفقدان الإتصالات بين الخلوية، ووجود التقرن المفرد للخلايا. يدعى التقدير النسيجي لمدى تشابه الورم مع النسيج الأصلي بالدرجة النسيجية histological grade وتقيّم درجة الآفات بـ 3 درجات مختلفة حسب تصنيف Border (Border, 2016).

- الدرجة III **high grade tumor العالية الخباثة:**

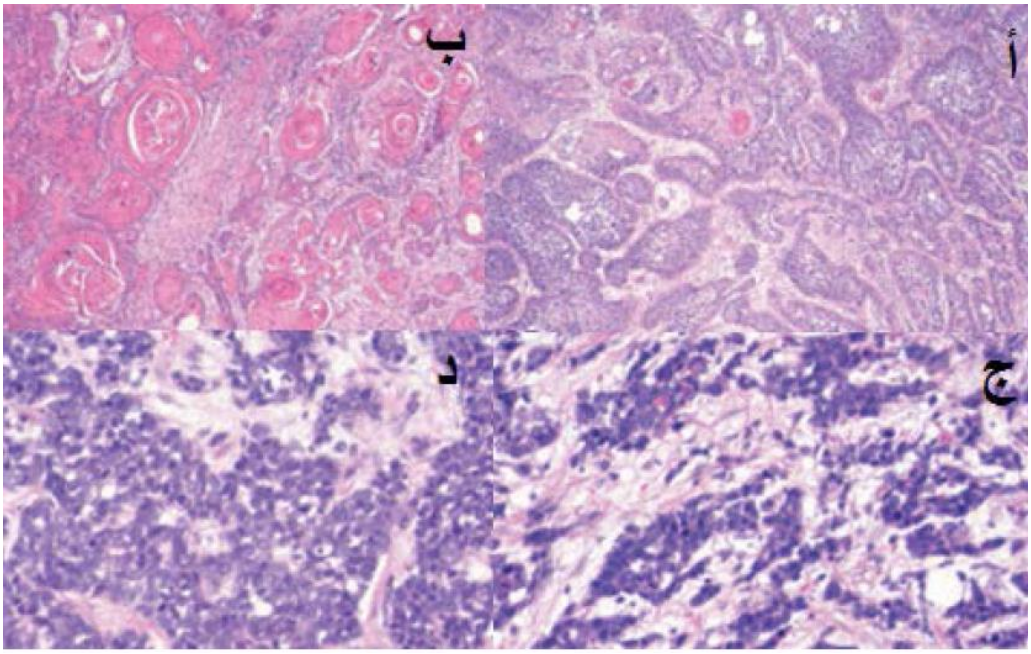
هي الأورام الأقل تمايزاً poor differentiated وفيها الورم يكون ذا خلايا متعددة الأشكال والأحجام ولا تشبه الخلايا الحرشفية، تنتج كميات قليلة من القرنين أو لا تنتجه أبداً، وبالتالي يصعب تحديد أصل النسيج، وهي غالباً ماتكبر بسرعة وتستعمر بشكل مبكر.

- الدرجة I **(low grade tumor) المنخفضة الخباثة:**

هي للأورام جيدة التمايز well differentiated وفيها الورم يماثل النسيج الأصل، وهي غالباً ماتنمو ببطئ وهدوء وتستعمر بشكل متأخر.

- **الدرجة II وهي للأورام المعتدلة التمايز moderately differentiated:**

وهي تتوسط بين الحالتين السابقتين (Border, 2016).



الشكل(1-11) درجات الاصابة النسيجية في السرطان شائك الخلايا

أ: درجة جيد التمايز – ب: درجة 2 معتدل التمايز –ج، د : درجة 3 منخفضة التمايز

5-5: الانذار:

أشارت دراسات الى أن معدل البقاء لمدة خمس سنوات أو أكثر قد بلغ 50% من الحالات، بينما أشارت دراسات أخرى الى معدل بقاء لمدة تتجاوز الخمس سنوات 56%، مع احتمال نكس بعد العمل الجراحي 38% والآفات المجتاحة للأنسجة الرخوة 77% من الحالات (Ranganathan et al., 2015).

5-6: أسباب الإصابة:

هناك العديد من العوامل المؤثرة في نشوء السرطان، ولكن السبب الأكبر لحدوثه هو **التبغ** فقد لوحظ علاقة قوية بين مضغ التبغ والسرطان البشروي شائك الخلايا الفموي.

كما ذكر البعض أن تدخين ومضغ التبغ يأتي في المرتبة الثانية بعد **الكحول** في التسبب بالسرطان شائك الخلايا الفموي (Lima et al., 2012).

ويُعتبر تباين **العوامل الوراثية والصفة والعناية الشخصية** واختلاف العرق أيضاً من العوامل المهمة في نشوء السرطان شائك الخلايا الفموي OSCC.

وقد يرجع اختلاف حدوث الـ OSCC في المناطق الجغرافية المختلفة في بعض الحالات الى **سوء التغذية** نتيجة فقدان بعض العناصر الغذائية في بعض المناطق.

وترى العديد من الدراسات أن **انخفاض الحالة الاقتصادية والاجتماعية** للمرضى تعتبر عاملاً مؤهباً لحدوث آفة سرطانية وكذلك الحال في **انخفاض مستوى التربية والتعليم**.

أيضاً تعتبر **الإنتانات الفموية والتعويضات السنية السيئة والتعرض للأشعة السينية والحروق الواسعة وكذلك الإنتان بالحمى الراشحة HIV** من العوامل المهمة المؤهبة لحدوث OSCC (Yang et al., 2012).

الباب الثاني

مواد البحث وطرائقه

MATRIALS AND METHODS

1: تصميم الدراسة:

دراسة نسيجية كيميامناعية راجعة استعاديّة أُجريت اعتماداً على أرشيف قسم النسج والتشريح المرضي الفموي في كليّة طبّ الأسنان بجامعة دمشق.

2: عيّنة البحث:

2-1: حجم العيّنة:

حُدِّدَ حجم العيّنة بالاستناد إلى دراسات مُشابهة، وذلك باستخدام برنامج G*power. يبلغ حجم العيّنة 70 خزعة نسيجيّة مثبّتة بالفورمولين ومدمجة بشمع البارافين ومحفوظة في أرشيف قسم النسج والتشريح المرضي الفموي في كليّة طب الأسنان جامعة دمشق وأرشيف مخبر الأستاذ نبيل قوشجي.

تمّ أخذ العيّنة اعتماداً على التشخيص المسبق لها على أنّها خزعات من آفات حاوية على سوء التصنّع البشروي الفموي بدرجات مختلفة، والسرطان شائك الخلايا البشروي الفموي بدرجات مختلفة.

وقد تمّ الحصول على مقاطع نسيجيّة بثخانة 4 ميكرونات من كلّ خزعة من خزعات العيّنة بقطعها بواسطة المبشرة النسيجيّة بهدف الحصول على محضّرات نسيجيّة قابلة للفحص المجهري. حيث تمّ تحضير محضّرين نسيحيّين لكل خزعة أحدهما للتلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين وأيوزين والآخر للتلوين بالملون الكيميامناعي النسيجي Ki-67.

2-2: العيّنة الشاهدة:

تتكون العيّنة الشاهدة من 10 خزعات نسيجيّة من نسج فمويّة سليمة أُخذت حديثاً من المُخاطيّة المغطية للأرحاء الثالثِة خلال قلع الأرحاء المنطمرة، تمّ الحصول عليها عن طريق مشفى جراحة الفم والفكين _ جامعة دمشق بعد الحصول على موافقة المريض والموافقات القانونية والأخلاقية، وقد ثُبّتت خزعات العيّنة الشاهدة بالفورمالين 10% بهدف حفظها ونقلها إلى مكان إجراء الدراسة.

3: مواد البحث:

1- الكحول بتراكيز مختلفة الشكل رقم (2-1).

2- الإكزيلول الشكل رقم (2-2).

3- سلايدات زجاجية من شركة (Sail Brand) الصينية الشكل رقم (2-3).

4- مواد التلوين بملونات الهيماتوكسيلين و الإيوزين التقليدية الشكل رقم (2-4).

5- بلسم كندا

6- سواتر زجاجية رقيقة من نوع Citoglas

7- مواد الملونات المناعية :

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

B . ظروف المحلول الدارىء من Dako الشكل رقم (2-5).

C . محلول إسترجاع المستضد Antigen retrieval الشكل رقم (2-6).

D. كيت التلوين المناعي المفرد من شركة Bio SB الأمريكية الشكل (2-7) ويضم:

Chromogen solution-DAB BUFFER-HRP LABEL-PEROXIDASE

E . ضد Ki-67 من شركة Biosb ويتوضع هذا الواسم في نواة الخلايا الشكل رقم (2-8).

F - قلم التحديد من شركة Dako الشكل رقم (2-9).

4: الأجهزة المستخدمة

1-المبشرة النسيجية (Microtome) لقطع الأنسجة بثخانة رقيقة 4 ميكرونات من نوع Leica الألمانية الشكل رقم (2-10).

2- المحم المائي للحصول على الماء الفاتر بدرجة 40- 45 الشكل رقم (2-11).

3- السخان من نوع (Leica - ألمانيا) الشكل رقم (2-12).

4- المايكرويف الشكل رقم (2-13).

5- الممصات Pipette الشكل رقم (2-14).

6- المجهر الضوئي نوع Nikon Olympus – cx21 - الياباني الشكل قم (2-15).

	
الشكل (2-1) الكحول	الشكل (2-2) الإيكزيلول
	
الشكل(2-3) الشرائح الزجاجية والسواتر	الشكل (2-4) الهيماتوكسيلين والإيوزين
	
الشكل (2-5) ظروف المحلول الدارىء من Dako	الشكل (2-6) محلول إسترجاع المستضد Dako
	
الشكل (2-7) الكيت المناعي المفرد من Bio-SB	الشكل (2-8) ضد وحيد النسيلة لـ Ki-67

	الشكل (2–9) قلم التحديد
	
الشكل (2–10) المبشرة النسيجيّة	الشكل (2–11) المحمّ المائي
	
الشكل (2–12) السخّان	الشكل (2–13) المايكروويف
	
الشكل (2–14) الممص	الشكل (2–15) المجهر الضوئي

5: طريقة العمل:

5-1: طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين:

1- ثُبت المكعب الشمعي على المبشرة النسيجية Microtome وتحدد سماكة القطع ب 4 ميكرون.

2- فُرشت المقاطع البارافينية في محم مائي يحتوي على ماء مقطر بدرجة حرارة 40-45 درجة مئوية لإزالة التجاعيد وتحميلها على الشرائح الزجاجية.

3- وُضعت الشرائح الزجاجية في فرن التجفيف بدرجة حرارة 45-50 درجة مئوية لتجفيفها من الماء لمدة 10 دقائق.

4- ثم مُررت الشرائح في 3 حمامات من الكزيلول لمدة 15 دقيقة لكل حمام بهدف إزالة شمع البارافين.

5- مُررت بعد ذلك الشرائح في الكحول المطلق، ثم كحول بنسبة 95% يليها 70% ثم 50% لمدة 15 دقيقة لكل حمام لتتم إزالة الكزيلول.

6- غُسلت الشرائح بالماء ووضعت في الهيماتوكسيلين لمدة دقيقتين , ثم غُسلت بالماء عدة مرات لإزالة الهيماتوكسيلين الزائد.

7- وُضعت بعد ذلك في الإيوزين لمدة تتراوح بين دقيقة ودقيقة ونصف وغُسلت بالماء لإزالة الإيوزين الزائد.

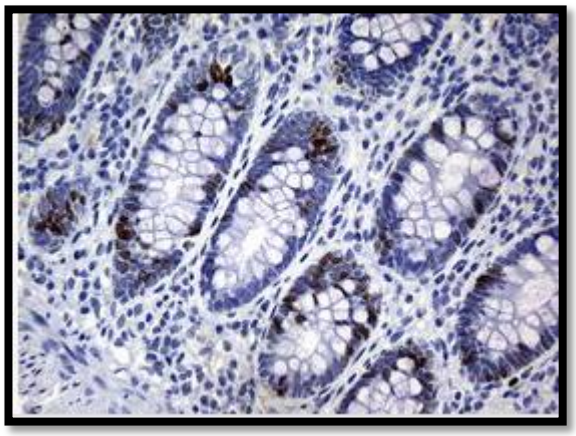
8- وُضعت في حمام كحول 70% لمدة دقيقة ثم 95% لمدة دقيقة، ثم في حمامين من الكحول المطلق لمدة دقيقة واحدة لكل حمام ليتم طرد الماء من النسيج.

9 - جُففت العينة ووُضعت في الكزيلول لمرتين متتاليتين لمدة 3 دقائق في كل مرة لطرد الكحول.

10 - سُترت السلايدات الزجاجية بالسواتر باستخدام بلسم كندا لتصبح جاهزة للفحص النسيجي.

2-5: طريقة التلوين المناعي:

تمّ اختبار فعالية الملون وذلك حسب البروتوكول المناعي الذي أوصت به الشركة المصّنعة، وتم اختبار فعالية الملون على خلايا بشرة الكولون (Positive control).



الشكل (2-16) يوضح اختبار فعالية الملون

البروتوكول المناعي المتبع:

1- إزالة شمع البارافين :

- حُضرت المقاطع النسيجية بالمبشرة بثخانة 4 ميكرونات.

- وُضعت المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية ذات اللاصق المناعي.

- وُضعت الشرائح في فرن التجفيف مدة 120 دقيقة بدرجة 50 درجة مئوية.

- مُررت الشرائح في سلسلة من الحمامات تتضمن حمامين من الكزيلول النقي لمدة (3- 5 دقائق) لكل منهما، ليتبع بثلاثة حمامات من الكحول تبدأ بالكحول المطلق ثم الكحول 75% ، ومن ثم 50% مدة خمس دقائق لكل حمّام، وبعدها تغسل الشرائح بالماء الجاري بلطف.

2- عملية إسترجاع المستضد:

- تم تحضير محلول إسترجاع المستضد حسب تعليمات الشركة المصنعة، وذلك بتمديده بالماء المقطر بنسبة (100/1) ، وقد تم هذا التحضير لكل من Citrate / EDTA حيث وضعت الشرائح ضمن وعاء يحوي كمية كافية من محلول استرجاع المستضد وغُمرت الشرائح فيه بشكل كامل، وضع الوعاء في المايكروووف لمدة 15 دقيقة (حوالي 10 دقائق بعد الغليان).

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

– ثم وُضعت الشرائح في حوض يحوي السائل الدارئ PBS لمدة 5 دقائق، ثم نقلت إلى حوض آخر يحوي السائل الدارىء أيضاً PBS لمدة 3 دقائق مع الانتباه لعدم جفاف المقاطع النسيجية خلال مراحل التلوين كافة.

3– تطبيق Peroxidase Blocker

– أُزيل المحلول الدارىء PBS الزائد ومُسح حول العينة بلطف، واستُخدم قلم التحديد من DAKO لتحديد حول المقاطع النسيجية بهدف منع تسرب المواد المطبقة خارج النسيج الشكل رقم (2–17). وطُبقت المادة بواسطة الممص (Eppendorf) بحيث غطت كامل العينة وتركت 5 دقائق الشكل رقم (2–18).

– غُسلت الشرائح بعدها بالمحلول الدارىء PBS مع تجنب الغسيل المباشر للعينة النسيجية، ثم وضعت في حمام جديد من السائل الدارىء لمدة 5 دقائق الشكل رقم (2–19).

4– تطبيق الضد الأولي Primary antibody

–حُضرت الملونات ومُددَت بالسائل الدارىء PBS حسب التراكيز المذكورة سابقاً، وبعدها أزيل المحلول الدارىء الزائد مع المسح حول العينة بلطف، ثم طبق الضد الأولي لـ Ki–67 بواسطة الممص بحيث تغطى كامل العينة، وكان زمن الحضن 45 دقيقة الشكل رقم (2–20).

– غُسلت بعدها الشرائح بالمحلول الدارىء ووضعت في حوض من السائل الدارىء لمدة 5 دقائق.

5- تطبيق Secondary Biotinylated و HRP Label لمدة عشر دقائق لكل منهما الشكل رقم (2-21).

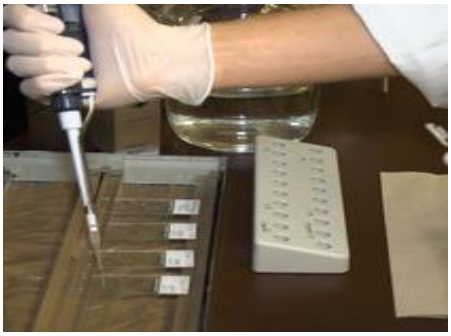
6- تطبيق DAB :

حُضر حسب توصيات الشركة المنتجة (1 مل من Substrate buffer مقابل 20 ميكروناً من DAB + Chromogen) مع المزج جيداً ضمن عبوة مناسبة الشكل رقم (2-22)، كذلك أُزيل المحلول الدارىء من حول العينة وطبقت المادة بلطف بواسطة الممص بحيث تغطي 1 مل العينة وتركت لمدة 5 دقائق، ثم غسلت الشرائح بلطف الشكل رقم (2-23).

7- ثم طُبق الهيماتوكسيلين على العينات لمدة تقارب 30 ثانية ثم غسلت بالماء الشكل رقم (2-24).

8- بعدها مررت الشرائح بحمامات متتالية من الكحول ثم الكحول المطلق (كل حمام لمدة 3 دقائق) ثم حمامين من الكزيلول (3-5 دقائق)، وفي النهاية سترت العينات ببلسم كندا وأصبحت جاهزة للدراسة المناعية.

	
الشكل (2-17) تحديد العينة بقلم Dako	**الشكل (2-18) تطبيق البيروكسيداز**

	
الشكل (2-19) غمر السلايدات في السائل الدارىء	الشكل (2-20) تطبيق الضد الأولي
	
الشكل (2-21) تطبيق HRP-Label على النسيج	الشكل (2-22) تحضير الكروموجين
	
الشكل (2-23) تطبيق الكروموجين	الشكل (2-24) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج

6: التقييم النسيجي للعينات المدروسة:

6-1: التقييم النسيجي للعيّنة الشاهدة الملونة H&E:

باستخدام المجهر الضوئي تمّ فحص شرائح العيّنة الشاهدة بهدف التأكد من سلامتها وخلوها من أيّة علامات التهابيّة أو فرط تقرن أو سوء تصنّع.

6-2: طريقة التقييم النسيجي لشرائح سوء التصنع البشروي الملونة H&E:

باستخدام المجهر الضوئي تمّ فحص الشرائح المونة بالهيماتوكسيلين والأيوزين بهدف تحديد درجة سوء التصنّع البشروي في كلّ خزعة نسيجيّة من العينة.

اختيرت الساحات الثلاثة الممثلة لأشدّ حالات سوء التصنّع في المحضّر الواحد، ووصفت التغيّرات النسيجية الحاصلة في كلّ محضّر، واعتماداً على تلك التغيّرات تمّ تصنيف الخزعات النسيجيّة في العيّنة إلى مجموعات تبعاً لدرجة سوء التصنّع البشروي الفموي الموجود فيها وذلك حسب نظام تصنيف منظّمة الصحة العالميّة 2005 (Barnes et al., 2005) وفق الجدول (2-1) التالي:

الدرجة	مستوى التغير	التغيرات الخلوية	التغيرات البنيوية
سوء التصنع البسيط	الثلث القاعدي	تعدد الأشكال الخلوية والنووية زيادة اصطباغ النوى	فرط تصنع الطبقة القاعدية
سوء التصنع المتوسط	حتى الثلث المتوسط	تعدد الأشكال الخلوية والنووية تفاوت حجوم النوى والخلايا زيادة اصطباغ النوى زياد الأشكال الفتيلية غير الطبيعية	فقدان القطبية اضطراب في نضج الخلايا من الطبقة القاعدية حتى الشائكة امتدادات اصبعية مغزلية الشكل فرط تصنع الطبقة القاعدية زيادة كثافة الخلايا
سوء التصنع الشديد	حتى الثلث السطحي	تعدد الأشكال الخلوية والنووية تفاوت حجوم النوى والخلايا زيادة اصطباغ النوى زياد الأشكال الفتيلية غير الطبيعية زيادة حجوم النوى والخلايا زيادة أعداد وحجوم النويات	اضطرابات النضج من الطبقة القاعدية إلى الشائكة فرط تصنع الطبقة القاعدية زيادة كثافة الخلايا سوء تقرن (تقرن غير ناضج) لآلئ كيراتينية في عمق الظهارة انحلال الأشواك

الجدول (2-1) تصنيف سوء التصنع البشروي الفموي المعتمد في الدراسة

وبذلك صنفت الخزعات النسيجيّة في العيّنة إلى ثلاث مجموعات:

- المجموعة الأولى: خزعات سوء التصنّع البسيط.
- المجموعة الثانية: خزعات سوء التصنّع المتوسط.
- المجموعة الثالثة: خزعات سوء التصنّع الشديد.

3-6: طريقة التقييم النسيجي لشرائح السرطان شائك الخلايا البشروي الملونة H&E:

بعد إنهاء تلوين محّضرات عيّنة الدراسة بالهيماتوكسلين والإيوزين يتمّ فحصُها تحت المجهر الضوئي للتأكّد من صحّة التشخيص، واستبعاد أي حالة تدعو للشك والحالات سيّئة الحفظ أو التثبيت، ثمّ يتم تقييم درجة التمَايُز النسيجيّة لكلّ حالة وفق تصنيف منظّمة الصحّة العالميّة 2005 وفق الجدول (2-2) التالي: (Barnes et al., 2005b).

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

الجدول (2-2) تصنيف السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي المعتمد في الدراسة

وبذلك صنفت الخزعات النسيجيّة في العيّنة إلى ثلاث مجموعات:

- المجموعة الأولى: السرطان شائك الخلايا الدرجة I
- المجموعة الثانية: السرطان شائك الخلايا الدرجة II

- المجموعة الثالثة: السرطان شائك الخلايا الدرجة III

6-4: التقييم النسيجي للعينّة الشاهدة الملوّنة IHC:

تم فحص شرائح العيّنة الشاهدة الملونة Ki-67 بالمجهر الضوئي بهدف التأكد من جودة الملوّنات المناعيّة الكيميانسيجية المستخدمة وسلامة الطريقة التي اتُبعت في تلوين الشرائح. بالإضافة إلى التّعرف على كيفية ظهور تعبيريّة الملون في الخلايا الطبيعيّة. ووُجد ان الخلايا الإيجابية تبدي تعبيرية نووية في الخلايا التي تعبّر عن مرحلة الإنقسام.

6-5: التقييم النسيجي لعينّات سوء التصنع البشروي والسرطان شائك الخلايا البشروي الملوّنة IHC:

تمّ فحص الشرائح الملوّنة بالـ Ki-67 بواسطة المجهر الضوئي وفق المجموعات المقسّمة مسبقاً اعتماداً على التلوين H&E، دُرست خمس ساحات نسيجيّة من كل محضرّ على العدسة 400X.

تمّ إحصاء عدد الخلايا يدوياً والخلايا المعدودة من كل ساحة هي الخلايا ذات التعبيرية النوويّة للملوّن Ki-67 وحُسبت نسبتها.

اعتُبر أنّ نسبة الخلايا في كلّ محضّر هي متوسّط نسبها في السّاحات الخمس المدروسة.

7: الإختبارات الإحصائية المستخدمة:

تم إستخدام برنامج SPSS v.19 لتحليل البيانات التي حصلنا عليها إحصائياً، بالإضافة إلى برنامج (MS Excel 2013) لإنجاز الرسوم البيانية.

ولتحريّ وجود فروق في تعبيريّة Ki-67 بين العينات المدروسة، نجري اختبار التباين One-way ANOVA وهو اختبار إحصائي يستخدم لدراسة الفروق بين متوسّطات عدّة عينات مستقلّة، أي مُقارنة معيار معين بين عدّة مجموعات منفصل، حيث تُحسب قيمة المعنويّة (P-value) من إحصاء الاختبار(F) ثمّ نقارنها بالقيمة (α=0.05)، فإذا كانت (P-value < 0.05) فإنّ الاختبار معنوي ونقبل الفرضيّة البديلة H1 بثقة 95 %. ويمكن صياغة الفرضيّات التي يختبرها بالشكل التالي:

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

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

وفي حال وجود فروق، نجري اختبار **Bonferroni** لدراسة الفروق بين كل مجموعتين مثنى مثنى.

الباب الثالث

النتائج والدّراسة الإحصائية

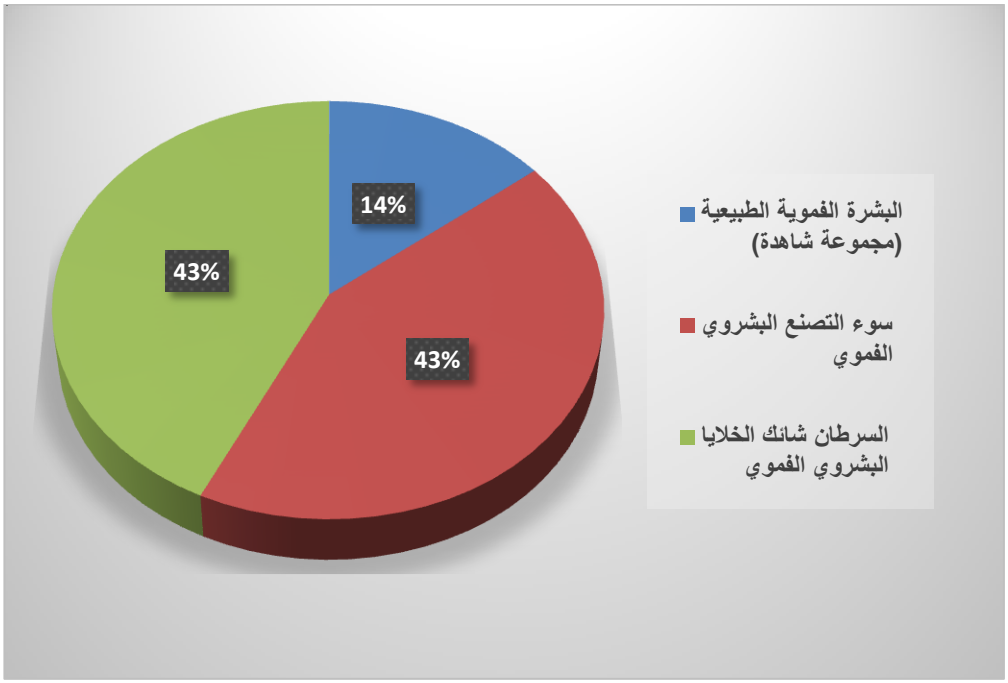
RESULT AND STATISTICAL STUDY

1: وصف العينة:

تألفت عينة البحث من 70 خزعة نسيجية مقسمة إلى ثلاث مجموعات كما هو موضح في الجدول رقم (3-1)، والمخطط رقم (3-1).

المجموعة	العدد	النسبة المئوية
بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	10	14.3
سوء تصنّع البشروي الفموي	30	42.9
السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي	30	42.9

الجدول (3-1) نسب المجموعات ضمن العينة

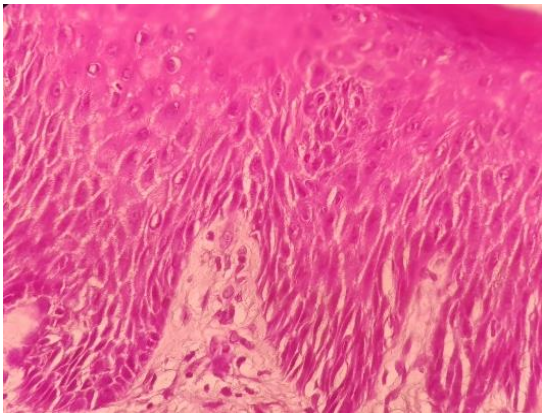


المخطط (3-1) توزيع العينة ضمن المجموعات

2: النتائج:

2-1: المجموعة الأولى: قيمة تعبيرية Ki-67 في العينة الشاهدة:

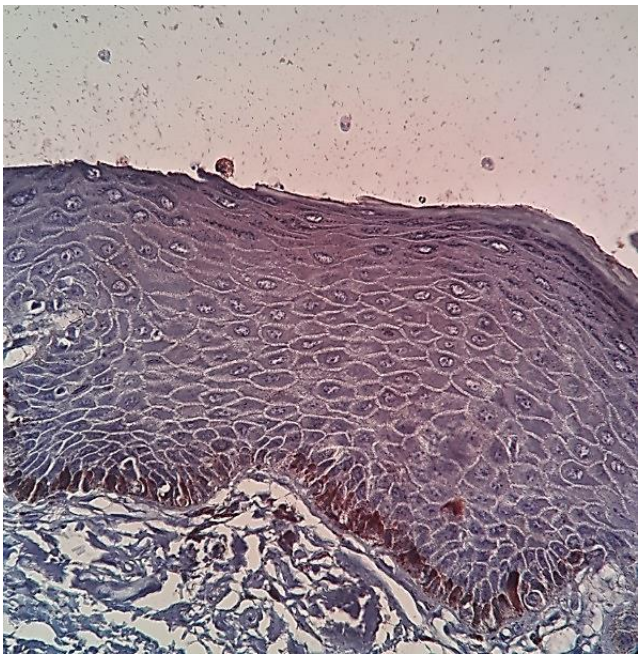
تألفت المجموعة الشاهدة من 10 خزعات لنسج سليمة من المخاطية الفموية (3-1).



الشكل (3-1) يوضح البشرة الفموية الطبيعية

تلوين H&E تكبير 400X

يلاحظ في المجموعة الشاهدة تعبيرية نوويّة لـ Ki-67، حيث أبدت جميع العينات تعبيريّة إيجابية لـKi-67 وتوزعت التعبيريّة الإيجابية في مجموعة من نوى الخلايا القاعدية فقط، حيث تعتبر الطبقة المولدة للخلايا. شكل (3-2).



الشكل (3-2) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية

وكانت النتائج في المجموعة الشاهدة كمايلي:

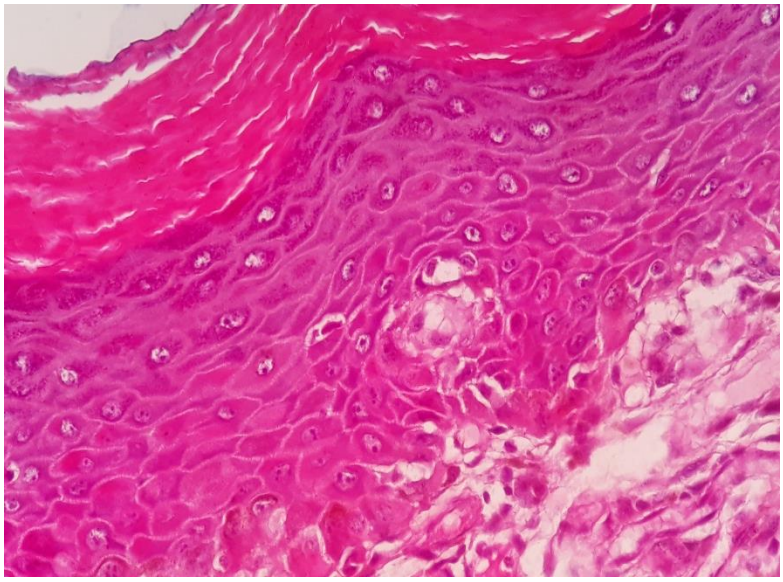
رقم الحالة	نسبة التعبيرية Ki-67 في نواة الخلايا
1 - بشرة فموية طبيعية	15%
2 - بشرة فموية طبيعية	10%
3 - بشرة فموية طبيعية	12%
4 - بشرة فموية طبيعية	8%
5 - بشرة فموية طبيعية	5%
6 - بشرة فموية طبيعية	10%
7 - بشرة فموية طبيعية	14%
8 - بشرة فموية طبيعية	15%
9 - بشرة فموية طبيعية	7%
10 - بشرة فموية طبيعية	10%

الجدول (3-2) يوضح نتائج المجموعة الشاهدة

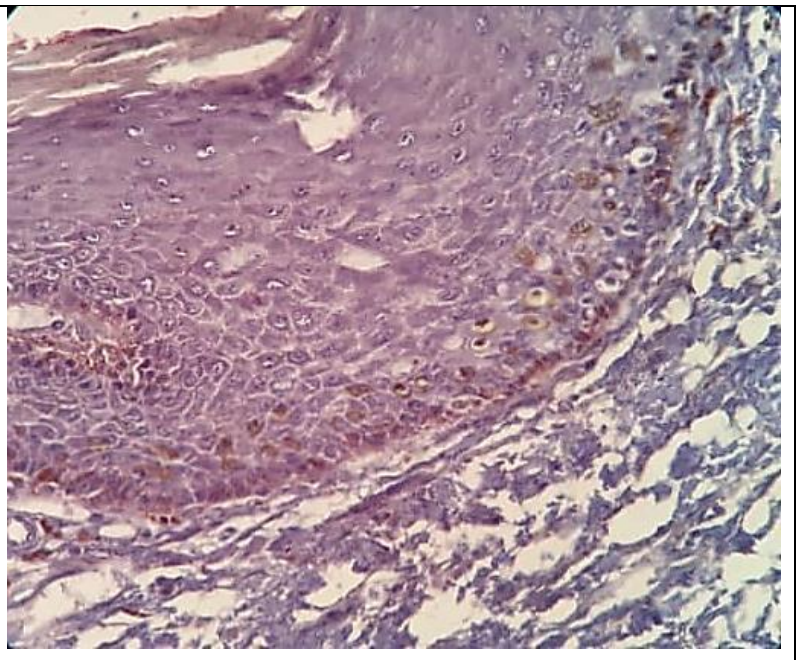
2-2: المجموعة الثانية: قيمة تعبيرية Ki-67 في مجموعة درجات سوء التصنع البشروي الفموي:

2-2-1: عينات سوء التصنع البشروي الفموي البسيط:

تألفت المجموعة من 10 خزعة نسيجية لسوء التصنع البشروي الفموي البسيط الشكل (3-3).

	**الشكل (3-3) يوضح سوء التصنع البشروي البسيط تلوين H&E تكبير 400X**

جميع عينات سوء التصنع البشروي البسيط أبدت تعبيرية للـKi-67 وتوزعت التعبيرية النووية في خلايا الطبقة القاعدية وبعض خلايا الطبقة فوق القاعدية. الشكل (3-4)

	**الشكل (3-4) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية وبعض خلايا الطبقة فوق القاعدية**

وكانت النتائج في المجموعة سوء التصنع البشروي الفموي البسيط كمايلي:

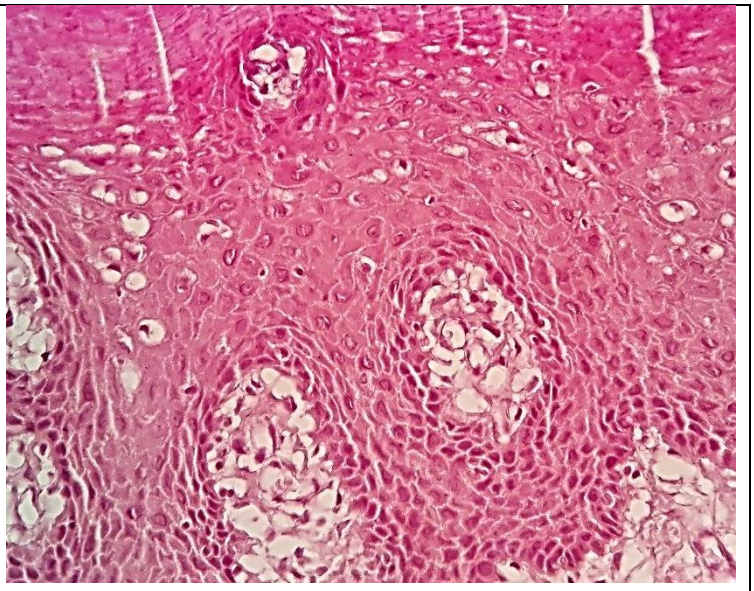
رقم الحالة:	نسبة نسبة التعبيرية Ki-67 في نواة الخلايا
1- سوء تصنع بسيط	15%
2- سوء تصنع بسيط	18%
3- سوء تصنع بسيط	10%
4- سوء تصنع بسيط	20%
5- سوء تصنع بسيط	25%
6- سوء تصنع بسيط	18%
7- سوء تصنع بسيط	17%
8- سوء تصنع بسيط	15%
9- سوء تصنع بسيط	10%
10-سوء تصنع بسيط	20%

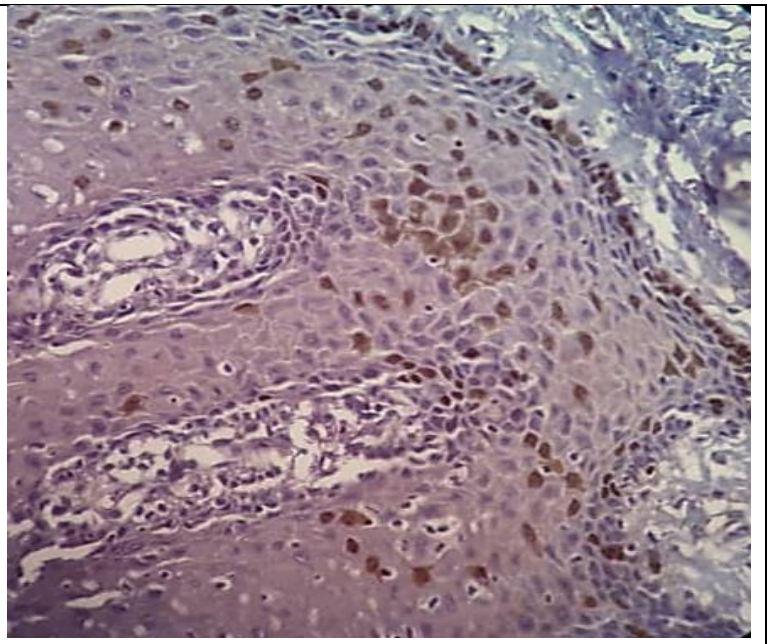
الجدول (3-3) يوضح نتائج مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي البسيط

2-2-2: عينات سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط:

تألفت المجموعة من 10 خزعات نسيجية لسوء التصنع البشروي الفموي المتوسط الشكل (3-5).

جميع عينات سوء التصنع البشروي المتوسط أبدت تعبيرية للـKi-67 وتوزعت التعبيرية النووية في خلايا الطبقة القاعدية وخلايا الطبقة فوق القاعدية وبعض خلايا الطبقة الشائكة. الشكل (3-6).

الشكل (3-5) يوضح سوء التصنع البشروي المتوسط تلوين H&E تكبير 400X	

الشكل (3-6) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية وخلايا الطبقة فوق القاعدية و بعض خلايا الطبقة الشائكة	

وكانت النتائج في المجموعة سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط كمايلي:

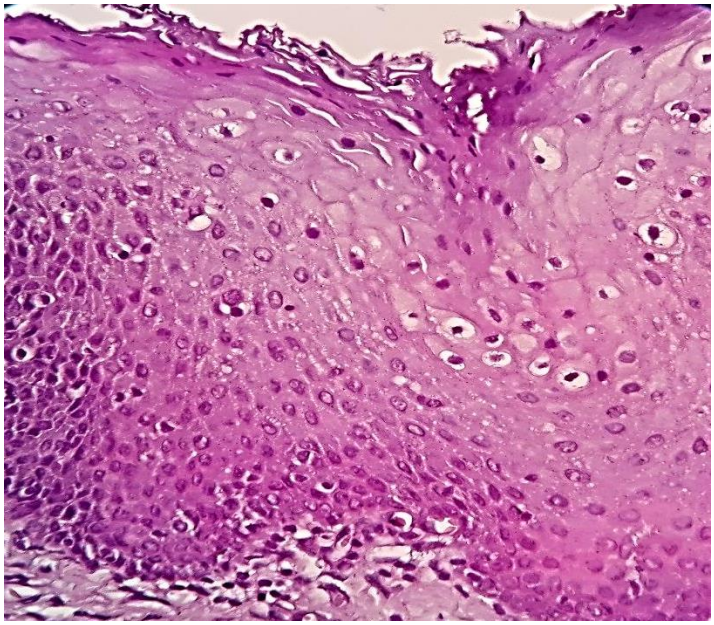
رقم الحالة:	نسبة نسبة التعبيرية Ki-67 في نواة الخلايا
1- سوء تصنع متوسط	25%
2- سوء تصنع متوسط	30%
3- سوء تصنع متوسط	27%
4- سوء تصنع متوسط	35%
5- سوء تصنع متوسط	30%
6- سوء تصنع متوسط	40%
7- سوء تصنع متوسط	25%
8- سوء تصنع متوسط	45%
9- سوء تصنع متوسط	35%
10 -سوء تصنع متوسط	37%

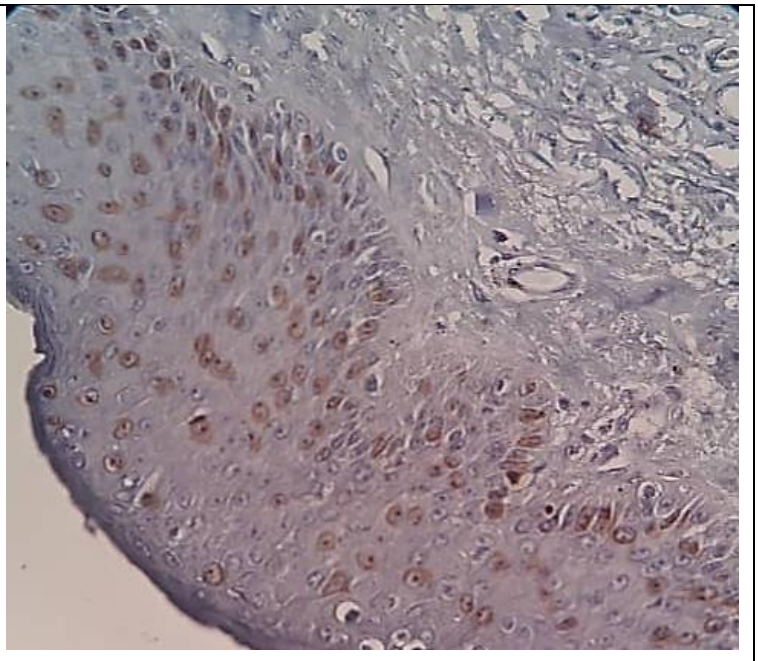
الجدول (3-4) يوضح نتائج مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط

3-2-2: عينات سوء التصنع البشروي الفموي الشديد

تألفت المجموعة من 10 خزعات نسيجية لسوء التصنع البشروي الفموي الشديد الشكل (3-7).

جميع عينات سوء التصنع البشروي الشديد أبدت تعبيرية لل67-Ki. وتوزعت التعبيرية النووية في خلايا الطبقة القاعدية والطبقة فوق القاعدية والطبقة الشائكة وصولاً للطبقة الحبيبية.الشكل (3-8).

	**الشكل (3-7) الشكل (3-5) يوضح سوء التصنع البشروي الشديد تلوين H&E تكبير 400X**

	**الشكل (3-8) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الطبقة القاعدية وخلايا الطبقة فوق القاعدية وخلايا الطبقة الشائكة وصولاً للطبقة الحبيبية تكبير 400X.**

وكانت النتائج في المجموعة سوء التصنع البشروي الفموي الشديد كمايلي:

رقم الحالة:	نسبة نسبة التعبيرية Ki-67 في نواة الخلايا
1- سوء تصنع شديد	50%
2- سوء تصنع شديد	65%
3- سوء تصنع شديد	55%
4- سوء تصنع شديد	60%
5- سوء تصنع شديد	70%
6- سوء تصنع شديد	55%
7- سوء تصنع شديد	66%
8- سوء تصنع شديد	52%
9- سوء تصنع شديد	60%
10 -سوء تصنع شديد	75%

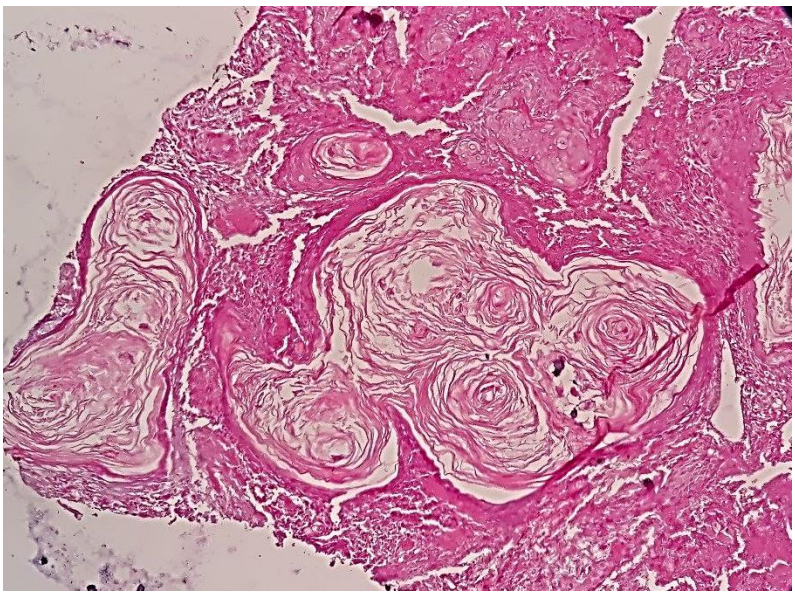
الجدول (3-5) يوضح نتائج مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي الشديد

2-3: المجموعة الثالثة: قيمة تعبيرية Ki-67 في عينة السرطان شائك الخلايا

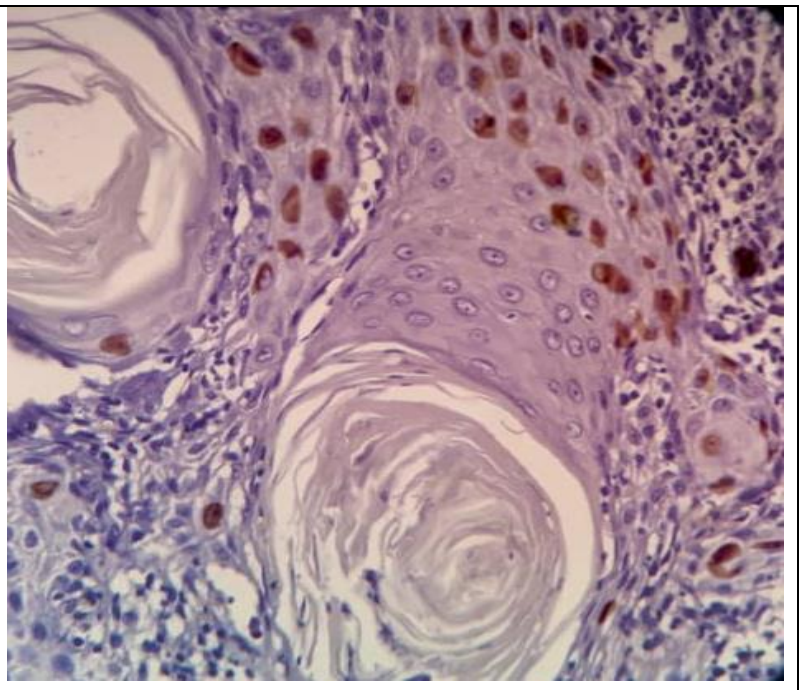
2-3-1: السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I:

تألفت المجموعة من 10 خزعات نسيجية لسرطان شائك الخلايا البشروي الفموي جيد التمايز الشكل (3-9). جميع عينات السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I أبدت تعبيرية لـKi-67 وتوزعت التعبيرية النووية في الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية

أما نوى الخلايا في المركز لا تبدي تعبيرية لل67-Ki. فهي خلايا متمايزة غير منقسمة تفرز القرنين. الشكل (3-10).



الشكل (3-9) يوضح السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I تلوين H&E تكبير X100



الشكل (3-10) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية من شائك الخلايا الفموي الدرجة I تكبير 400X.

وكانت النتائج في المجموعة السرطان شائك الخلايا جيد التمايز كمايلي:

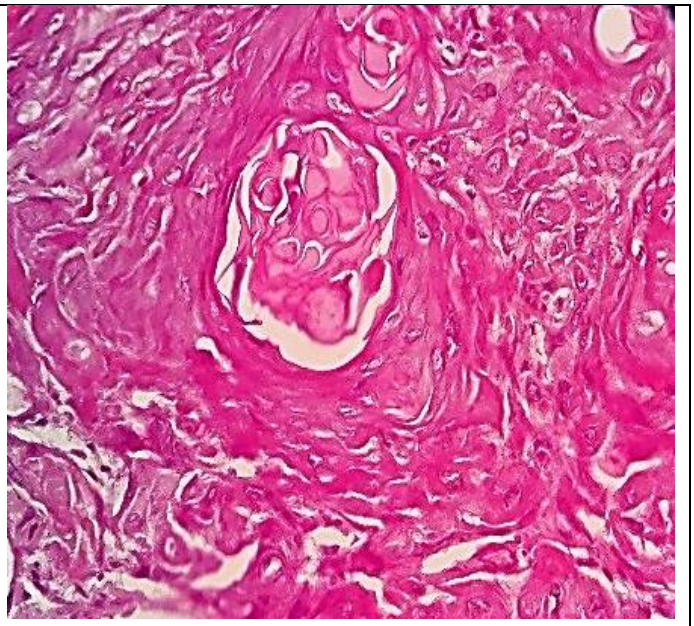
رقم الحالة:	نسبة نسبة التعبيرية Ki-67 في نواة الخلايا
1- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	27%
2- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	20%
3- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	15%
4- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	18%
5- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	25%
6- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	26%
7- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	27%
8- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	20%
9- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	30%
10 - السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I	25%

الجدول (3-6) يوضح نتائج مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة I

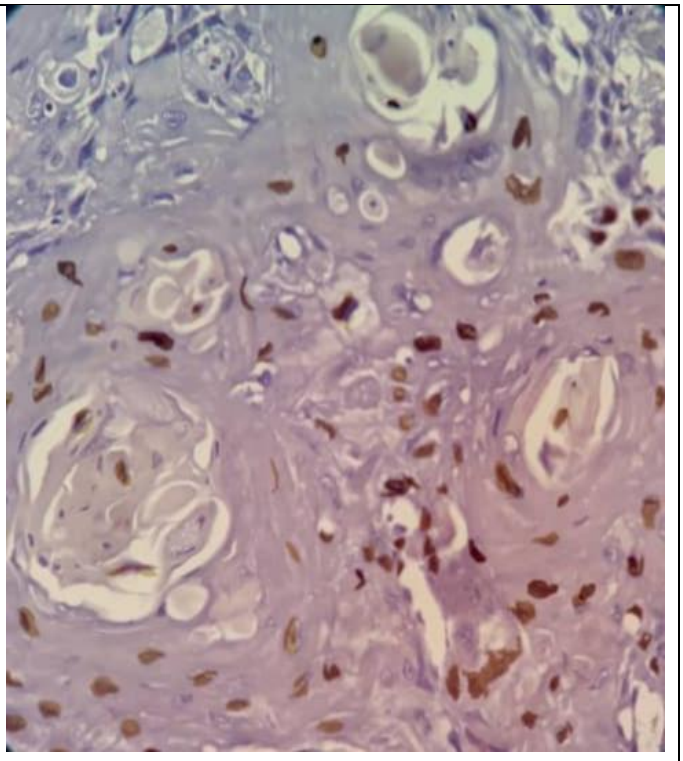
2-3-2: السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II:

تألفت المجموعة من 10 خزعات نسيجية لسرطان شائك الخلايا البشروي الفموي متوسط التمايز الشكل (3-11).

جميع عينات السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II أبدت تعبيرية للـKi-67 وتوزعت التعبيرية النووية في نوى الخلايا المتوضعة في محيط الجزر الورمية مع بعض نوى الخلايا في المركز حيث ازداد عدد الخلايا غير المتمايزة. الشكل (3-12).



الشكل (3-11) يوضح السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II تلوين H&E تكبير 400X.



الشكل (3-12) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية مع بعض نوى الخلايا في المركز من السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II تكبير 400X.

وكانت النتائج في المجموعة السرطان شائك الخلايا متوسط التمايز كمايلي:

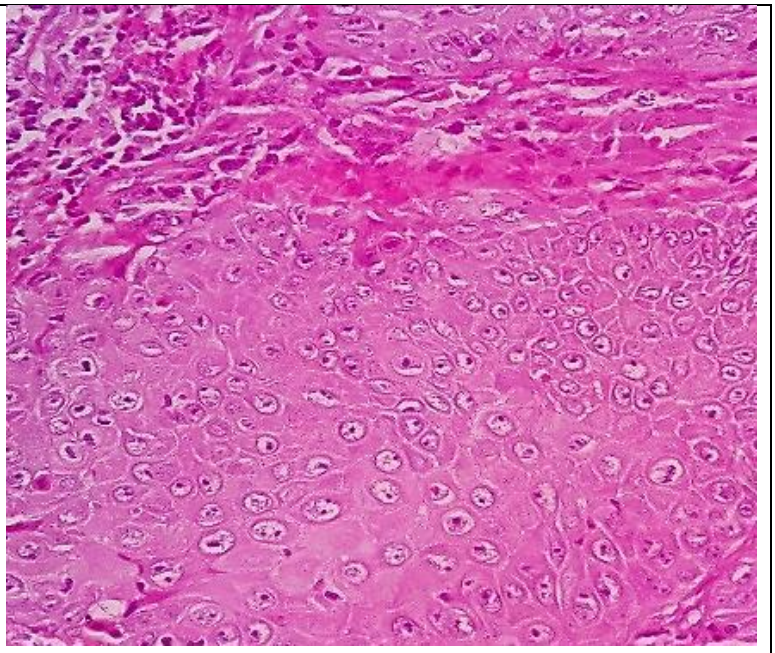
رقم الحالة:	نسبة نسبة التعبيرية –Ki 67 في نواة الخلايا
1- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	37%
2- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	45%
3- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	50%
4- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	30%
5- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	35%
6- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	45%
7- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	35%
8- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	40%
9- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	50%
10 - السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II	45%

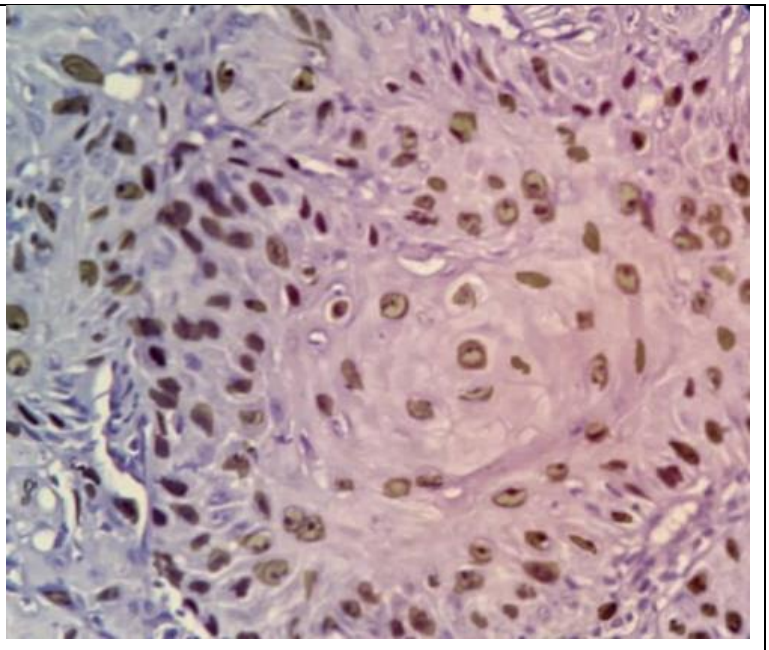
الجدول (3-7) يوضح نتائج مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة II

3-3-2: السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III

تألفت المجموعة من 10 خزعات نسيجية لسرطان شائك الخلايا البشروي الفموي ضعيف التمايز الشكل (3-13).

جميع عينات السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III أبدت تعبيرية للـKi-67 وتوزعت التعبيرية النووية في نوى الخلايا المتوضعة في محيط الجزر الورمية مع معظم نوى الخلايا في المركز حيث ازداد عدد الخلايا غير المتمايزة. الشكل (3-14).

	**الشكل (3-13) يوضح السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III تلوين H&E تكبير 400X.**

	**الشكل (3-14) يوضح تعبيرية Ki-67 في نوى الخلايا المتوضعة بمحيط الجزر الورمية مع معظم نوى الخلايا في المركز من شائك الخلايا الفموي الدرجة III تكبير 400X.**

وكانت النتائج في المجموعة السرطان شائك الخلايا ضعيف التمايز كمايلي:

رقم الحالة:	نسبة نسبة التعبيرية Ki-67 في نواة الخلايا
1- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	55%
2- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	60%
3- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	65%
4- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	70%
5- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	60%
6- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	55%
7- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	70%
8- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	75%
9- السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	66%
10 - السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III	65%

الجدول (3-8) يوضح نتائج مجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي الدرجة III

3: الدراسة الإحصائية

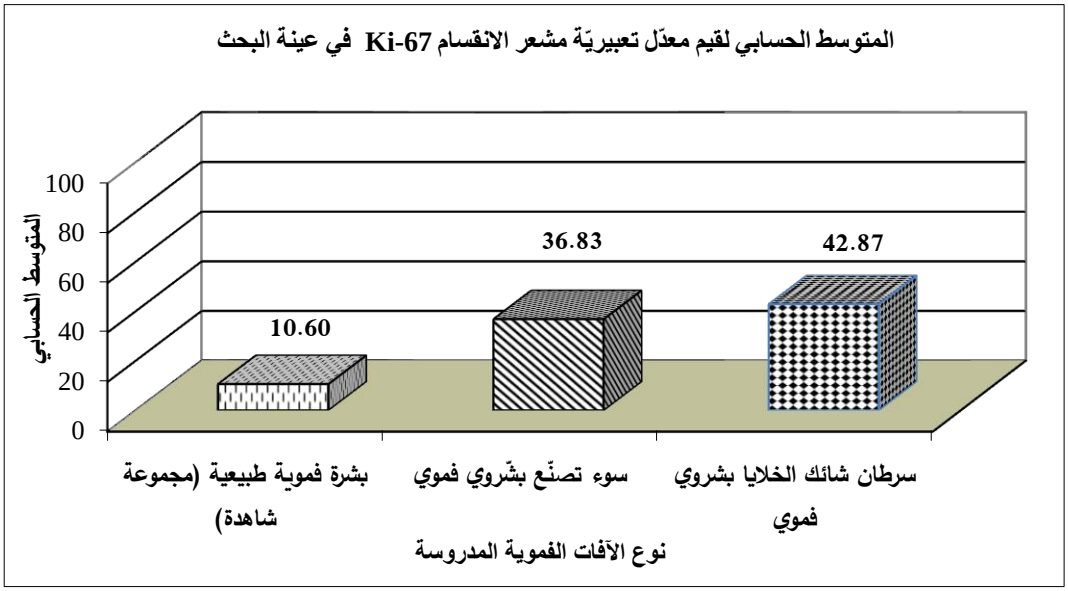
الإختبارات الإحصائية

اولاً: دراسة تأثير معدل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 على عينة البحث:

يوضح الجدول التالي وصفاً إحصائياً لمعدل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 في عينة البحث:

الإحصاءات الوصفية لمعدل تعبيريّة Ki-67						
نوع العينّة المدروسة	عدد الخزعات النسيجية	متوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	حد الأعلى
بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	10	10.60	3.41	1.08	5	15
سوء تصنّع بشروي فموي	30	36.83	19.56	3.57	10	75
سرطان شائك الخلايا فموي	30	42.87	17.99	3.28	15	75

الجدول (3-9) الإحصاءات الوصفية لمعدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث



مخطط (3-2) يبين المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث.

وللتحقق من وجود فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط معدل تعبيريّة Ki-67 مابين المجموعات المدروسة، نُجري اختبار تحليل التباين One-way ANOVA ونحصل على النتائج التالية:

المتغير المدروس = معدّل تعبيريّة Ki-67		
قيمة f المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
12.826	0.000	توجد فروق دالة

الجدول (3-10) يبين قيمة معدّل تعبيرية أنوية الخلايا لل Ki-67

من نتائج الاختبار نجد وبثقة 95%، فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم معدّل تلوّن أنوية الخلايا لمشعر Ki-67 مابين المجموعات المدروسة، ولدراسة هذه الفروق بمزيد من التفصيل تم إجراء المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni للمقارنة الثنائية بين كل زوج من المجموعات كما هو واضح في الجدول رقم (3-11).

المتغير المدروس = معدل تعبيرية Ki-67					
المجموعة (I)	المجموعة (II)	الفرق بين المتوسطين (II-I)	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
سوء تصنّع بشروي فموي	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	26.23	6.40	0.000	توجد فروق دالة
سرطان شائك الخلايا فموي	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	32.27	6.40	0.000	توجد فروق دالة
سوء تصنّع بشروي فموي	سرطان شائك الخلايا فموي	-6.03	4.53	0.561	لا توجد فروق دالة

الجدول (3-11) يبين المقارنة الثنائية لمقدار تعبيرية Ki-67

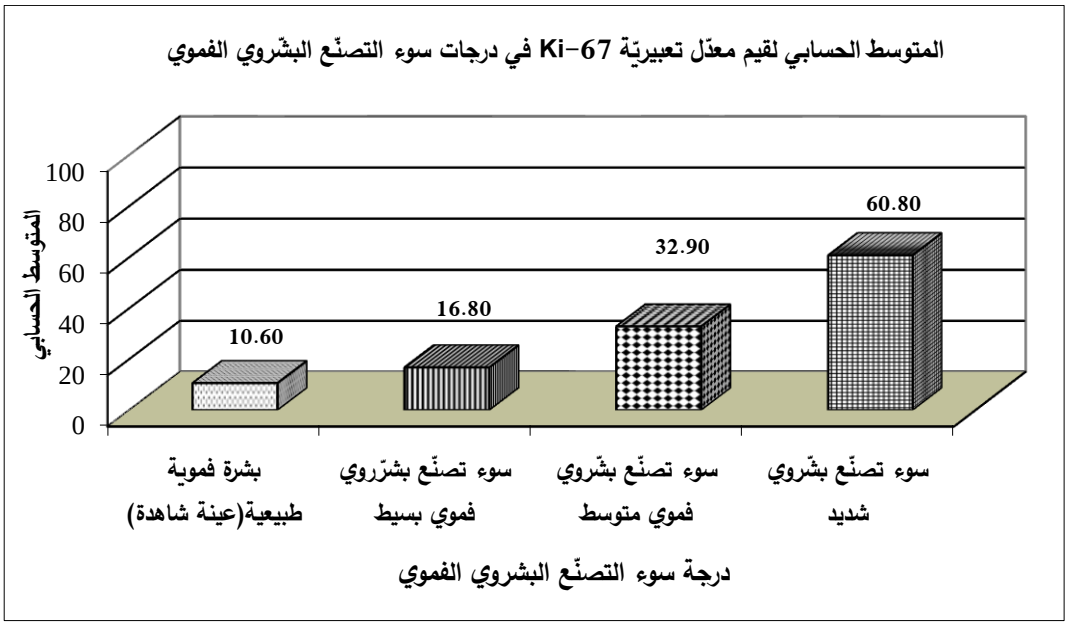
يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 عند المقارنة في قيم معدل تعبيرية مشعر الانقسام Ki-67 بين المجموعة الشاهدة وكل من مجموعة سوء التصنّع البشّروي الفموي ومجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي على حدة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً، أما عند المقارنة بين مجموعة سوء التصنّع البشّروي الفموي ومجموعة السرطان شائك الخلايا الفموي فيُلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق دالة إحصائياً.

ثانياً: دراسة درجات سوء التصنّع البشّروي الفموي في عينة البحث:

يوضح الجدول التالي وصفاً إحصائياً لمعدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 في عينة سوء التصنّع البشّروي الفموي:

المتغير المدروس = معدل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67						
درجة سوء التصنّع البشروي الفموي	عدد الخزعات النسيجية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	10	10.60	3.41	1.08	5	15
سوء تصنّع بشروي فموي (بسيط)	10	16.80	4.59	1.45	10	25
سوء تصنّع بشروي فموي (متوسط الشدّة)	10	32.90	6.66	2.11	25	45
سوء تصنّع بشروي فموي (الشديد)	10	60.80	8.12	2.57	50	75

الجدول (3-12) يبين معدّل تعبيريّة Ki-67 في درجات سوء التصنّع البشّروي الفموي



المخطط (3-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم معدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث وفقاً لدرجة سوء التصنّع البشروي الفموي.

لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في قيمة معدّل تلوّن أنويّة الخلايا مابين درجات الإصابة نجري إختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA وتتلخص النتائج في الجدول:

المتغير المدروس = معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67		
قيمة f المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
140.600	0.000	**توجد فروق دالة**

الجدول (3-13) يبين قيمة معدّل تعبيرية أنوية الخلايا لل Ki-67 في درجات سوء التصنّع البشّروي الفموي.

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروقٌ دالةٌ إحصائياً، ولمعرفة أي المجموعات تختلف عن الأخريات جوهرياً في معدل تعبيرية مشعر الانقسام Ki-67 تم إجراء المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni كما يلي:

المتغير المدروس = معدل تعبيرية مشعر الانقسام Ki-67					
المجموعة (A)	المجموعة (B)	الفرق بين المتوسطين (A-B)	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
سوء تصنّع بشروي فموي بسيط	سوء تصنّع بشروي فموي متوسط	-16.10	2.67	0.000	**توجد فروق دالة**
	سوء تصنّع بشروي فموي شديد	-44.00	2.67	0.000	**توجد فروق دالة**
	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	6.20	2.67	0.157	لا توجد فروق دالة
سوء تصنّع بشروي فموي متوسط	سوء تصنّع بشروي فموي شديد	-27.90	2.67	0.000	**توجد فروق دالة**
	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	22.30	2.67	0.000	**توجد فروق دالة**
سوء تصنّع بشروي فموي شديد	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	50.20	2.67	0.000	**توجد فروق دالة**

الجدول (3-14) يبين الفروق الثنائية في متوسط معدّل تعبيريّة Ki-67 بين مجموعات درجة سوء التصنّع البشّروي الفموي.

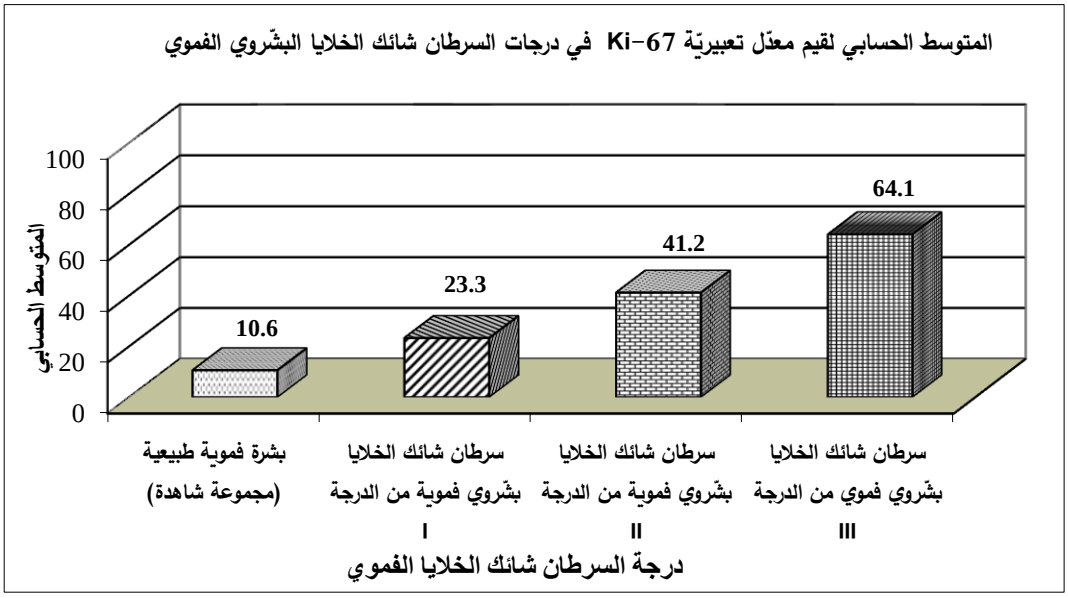
يبين الجدول السابق أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 عند المقارنة في قيم معدّل تعبيرية Ki-67 بين مجموعة سوء التصنّع البشروي الفموي البسيط والمجموعة الشاهدة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق دالة إحصائياً. أما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيُلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً. وبدراسة الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات نستنتج أن قيم معدّل تعبيريّة Ki-67 في مجموعة سوء التصنّع البشروي الشديد كانت الأكبر.

ثالثاً: دراسة درجات السرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي في عينة البحث

يوضح الجدول التالي وصفاً إحصائياً لمعدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 في عينة السرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي:

المتغير المدروس = معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67						
درجة السرطان شائك الخلايا الفموي	عدد الخزعات النسيجية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	10	10.60	3.41	1.08	5	15
سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة I	10	23.3	4.762	1.506	15	30
سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة II	10	41.2	6.828	2.159	30	50
سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	10	64.1	6.607	2.089	55	75

الجدول (3-15) يبين معدّل تعبيريّة Ki-67 في درجات السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي.



مخطط (3-4) يمثل المتوسط الحسابي لقيم معدل تعبيرية Ki-67 في عينة البحث وفقاً لدرجة السرطان شائك الخلايا.

لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في قيمة معدّل تلوّن أنوية الخلايا مابين درجات الإصابة نجري إختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA وتتلخص النتائج في الجدول:

المتغير المدروس = معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67		
قيمة f المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
173.132	0.000	**توجد فروق دالة**

الجدول (3-16) يبين قيمة معدّل تعبيريّة أنوية الخلايا لل Ki-67 في درجات السرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي.

يبين الجدول أعلاه أن قّيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائياً، ولمعرفة أي المجموعات تختلف عن الأخريات جوهرياً في معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 تم إجراء المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni كما يلي:

المتغير المدروس = معدل تعبيرية مشعر الانقسام Ki-67					
المجموعة (A)	المجموعة (B)	الفرق بين المتوسطين (A-B)	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة I	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة II	-17.90	2.50	0.000	توجد فروق دالة
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	-40.80	2.50	0.000	توجد فروق دالة
	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	12.70	2.50	0.000	توجد فروق دالة
سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة II	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	-22.90	2.50	0.000	توجد فروق دالة
	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	30.60	2.50	0.000	توجد فروق دالة
سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	بشرة فموية طبيعية (مجموعة شاهدة)	53.50	2.50	0.000	توجد فروق دالة

الجدول (3-17) يبين الفروق الثنائية في متوسط معدّل تعبيريّة Ki-67 بين مجموعات درجة السرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي.

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 بالنسبة لجميع المقارنات الثنائية المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً في متوسط قيم معدّل تعبيريّة Ki-67 بين جميع مجموعات درجة السرطان شائك الخلايا الفموي المدروسة في عيّنة البحث، وبدراسة الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات نستنتج أن قيم معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 في مجموعة السرطان شائك الخلايا من الدرجة III كانت الأكبر.

رابعاً: دراسة الفرق في معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 بين درجات مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي ودرجات مجموعة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي:

نقارن بين كل مجموعتين بإستخدام اختبار Bonferroni كما يوضح الجدول التالي:

المتغير المدروس = معدل تعبيرية مشعر الانقسام Ki-67					
المجموعة (A)	**المجموعة (B)**	**الفرق بين المتوسطين (A-B)**	**الخطأ المعياري للفرق**	**قيمة مستوى الدلالة**	**دلالة الفروق**
سوء تصنّع بشروي فموي بسيط	**سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة I**	-6.50	2.70	0.403	لا توجد فروق دالة
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة II	-24.40	2.70	0.000	**توجد فروق دالة**
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	-47.30	2.70	0.000	**توجد فروق دالة**
سوء تصنّع بشروي فموي متوسط	**سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة I**	9.60	2.70	0.015	**توجد فروق دالة**
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة II	-8.30	2.70	0.066	لا توجد فروق دالة
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	-31.20	2.70	0.000	**توجد فروق دالة**
سوء تصنّع بشروي فموي شديد	**سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة I**	37.50	2.70	0.000	**توجد فروق دالة**
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة II	19.60	2.70	0.000	**توجد فروق دالة**
	سرطان شائك الخلايا فموي من الدرجة III	-3.30	2.70	1.000	لا توجد فروق دالة

الجدول (3-18) يبين نتائج المقارنة الثنائية بين متوسط معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 بين مجموعات درجة الإصابة لسوء تصنع بشّروي الفموي ودرجات الإصابة بالسرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي.

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 عند المقارنة في قيم معدّل تعبيريّة مشعر الانقسام Ki-67 بين مجموعة سوء التصنّع البشّروي الفموي البسيط ومجموعة السرطان البشّروي الفموي شائك الخلايا من الدرجة I، وعند المقارنة بين مجموعة سوء التصنّع البشّروي الفموي متوسط الشدة ومجموعة السرطان البشّروي الفموي شائك الخلايا من

الدرجة II، وعند المقارنة بين مجموعة سوء التصنّع البشروي الفموي الشديد ومجموعة السرطان الفموي شائك الخلايا من الدرجة III، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً، أما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيُلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالّة إحصائياً.

الباب الرابع

المناقشة

DISCUSSION

المناقشة:

يتكون الغشاء المخاطي للفم من بشرة رصفية مطبقة، هذا التطبق هو نتيجة لتكاثر الخلايا الجذعية في الطبقة القاعدية من البشرة وتمايزها المتتابع يبدأ التمايز عندما تنفصل الخلايا المنقسمة عن القالب خارج الخلوي للخلايا المولدة وعندما تنضج الخلايا المنقسمة تندفع نحو السطح الظهاري عن طريق الضغط المتولد عن التكاثر (Janes et al., 2002). يعد تكاثر الخلايا عملية حيوية بسبب الدور الذي تلعبه في النمو والمحافظة على توازن الأنسجة وهو محصور في الطبقة القاعدية في البشرة الطبيعة وبالتالي ينبغي اعتبار ان وجود نشاط تكاثري خلوي في بقية الطبقات هو تكاثر غير طبيعي، وعملية التكاثر الخلوي تساعد في تصنيف الأورام اعتماداً على الصورة النسيجية، كما ان تكاثر الخلايا له صلة محتملة كمؤشر على استجابة العلاج والنكس، وأفادت العديد من الدراسات ان تكاثر الخلايا غير الطبيعي قد يكون مؤشراً على التكون الورمي (Pitiyage et al., 2009). والتطورات الحديثة في البيولوجيا الخلوية وضحت الآليات الدقيقة المتعلقة بأنظمة تطور الخلية وأظهرت أن التكاثر الخلوي غير المنظّم هو سمة مشتركة بين العديد من السرطانات (Sherr, 1996)، وعند دراسة العديد من الواسمات التكاثر الخلوي وجد ان الـ Ki-67 هو الواسم المناعي الأكثر موثوقيةً في الاستخدام بالمستقبل للتنبؤ والوقاية من السرطان (Liu and Klein-Szanto, 2000).

يتم استخدام العديد من الواسمات المناعية للكشف عن التكاثر الخلوي، وفي دراستنا استخدمنا مشعر الانقسام Ki-67، وهو مستضد نووي وحيد النسيلة الذي يتم التعبير عنه خلال مراحل دورة الخلية G1 و S و G2 و M ، ولكنه لم يتم العثور عليه أثناء G0.

تم وصف الأضداد وحيدة النسيلة Ki-67 لأول مرة عام 1983 م من قبل Johannes Gerdes وزملائه الذين اقترحوا أنه يمكن استخدام الـ Ki-67 كواسم للتكاثر الخلوي (Ross and Hall, 1995). إن التلوين المناعي للجسم المضاد Ki-67 معروف بشكل جيد كطريقةٍ فعالة وسريعة لتقييم النمو في الأنواع المختلفة من الأورام بسبب أنماط تفاعله المميزة التي تقتصر حصراً على الخلايا المتكاثرة.

تم وصف عدد من التطبيقات التشخيصية لبروتين Ki-67، حيث تم التعبير عنه بشكل كبير في الأنسجة الخبيثة مقارنةً بالأنسجة الطبيعية، كما انه يرتبط مع الأنسجة منخفضة التمايز، ويشير وجوده في مجموعة متنوعة من الأورام إلى أنه قد يكون من الممكن استخدام الـ Ki-67 في التصنيف الروتيني للسرطان، ويساعد إجراء المزيد من البحوث على واسمات التشخيص والإنذار في التشخيص المبكر، وتجدر الإشارة إلى أن تعبيرية الـ Ki-67 تعكِس معدل تكاثر الورم ويرتبط بتطور وإنذار الورم (Li et al., 2015).

اقترحَت الدراسات دوراً تنبؤياً لبروتين Ki-67 وأثبتت وجود علاقة بين نسبة الخلايا الخبيثة الإيجابية لـKi-67 ومعدل بقاء المريض (Golmohammadi and Pejhan, 2012).

وأفادت العديد من الدراسات بأن زيادة تعبيرية الـ Ki-67 تعتبر مؤشراً جيداً للنشاط التكاثري الخلوي في الآفات قبيل السرطانية والآفات الفموية الخبيثة (Zoeller et al., 1994)، (Ichikawa et al., 1997). ووُجد أن تعبيرية الـ Ki-67 بالإضافة لبروتينات دورة الخلية الورمية قد تمثل واسماً مهماً في التعرف على تطور الأفات قبيل السرطانية (Angiero et al., 2008).

وفي هذه الدراسة قمنا بالتحري عن وجود علاقة بين التعبيرية المناعية الكيميائية النسيجية لبروتين Ki-67 والدرجات النسيجية المختلفة من سوء التصنع البشروي الفموي والسرطان شائك الخلايا البشروي الفموي، ولمعرفة التعبيرية الطبيعية لهذا البروتين أخذنا عينة شاهدة للمقارنة وهي البشرة الفموية الطبيعية، وتعتبر التغيرات في النشاط التكاثري للخلايا ظاهرة شائعة في تشكل السرطان الفموي Oral carcinogenesis، ومن الناحية النسيجية، تعتبر الآفات التي تعاني من خلل التنسّج فقط آفات قبيل سرطانية، أي إذا لم يتم علاجها لديها احتمال أكبر للتطور إلى سرطان شائك الخلايا البشروي الفموي من المناطق التي تغطيها ظهارة طبيعية (Ribeiro et al., 2010).

1: مناقشة تعبيرية Ki-67 في البشرة الفموية الطبيعية:

كانت جميع عينات البشرة الفموية الطبيعية إيجابية لـ Ki-67، وكانت قيمة التعبيرية منخفضة إذ أن متوسط التعبيرية في هذه المجموعة كان (10.60) كما أن التعبيرية توضعت فقط في الطبقة القاعدية، ونفسر ذلك بإن الخلايا المولدة تتوضع في الطبقة القاعدية.

وقد توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Kumar وزملائه حيث وجد تعبيرية إيجابية لـ Ki-67 في بشرة المخاطية الفموية الطبيعية وتوزعت الإيجابية في الطبقة القاعدية (Kumar et al., 2015).

وقد تقاربت نتائج دراستنا مع دراسة Birajdar وزملائه حيث قام بالتحري عن تعبيرية مشعر التلوين Ki-67 في البشرة الفموية الطبيعية ووجد أن التعبيرية النووية تتوضع في الطبقة

القاعدية وبعض خلايا فوق القاعدية (Birajdar et al., 2014)، وقد يعود ذلك لاختلاف محاور القطع النسيجي .

2: مناقشة تعبيرية Ki-67 في سوء التصنع البشروي الفموي:

أبدت جميع العينات المدروسة تعبيرية إيجابية لـKi-67 في أنوية الخلايا لكن بدرجات مختلفة من التوزع والتوضع وكانت قيمة التعبيرية مرتفعة إذ ان متوسط التعبيرية في هذه المجموعة كان (36.83)، وبناءً على نتائج الدراسة الإحصائية وجدنا بأن تعبيرية الـ Ki-67 مرتفعة في مجموعة سوء التصنع البشّروي الفموي مقارنةً بالبشرة الفموية الطبيعية مع فروق دالة إحصائياً إذ أن **P =0.000**، وعند إجراء المقارنة الثنائية بين البشرة الفموية الطبيعية والدرجات النسيجية المختلفة من سوء التصنع البشروي الفموي وجدنا بأن تعبيرية الـ Ki-67 في سوء التصنع البشروي الفموي البسيط منخفضة وتوزعت التعبيرية في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية ولا توجد فروق دالة إحصائياً عند المقارنة مع البشرة الفموية الطبيعية إذ أن P =0.157، والتعبيرية في سوء التصنع البشّروي الفموي المتوسط كانت أكثر توضعاً حيث توزعت في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية وبعض خلايا الطبقة الشائكة مع وجود فروق دالة إحصائياً بينها وبين البشرة الفموية الطبيعية إذ أن P =0.000، أما التعبيرية في سوء التصنع البشّروي الفموي الشديد كانت مرتفعة وأكثر توضعاً بإتجاه الطبقات السطحية حيث توزعت في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية ومعظم خلايا الطبقة الشائكة وصولاً للطبقة الحبيبية مع وجود فروق دالة إحصائياً بينها وبين البشرة الفموية الطبيعية إذ أن P=0.000.

نفسر هذه النتيجة بإنه كلما زادت شدة سوء التصنع البشروي الفموي زادت عدد طبقات الخلايا التي تبدي علائم الكشم الخلوي كما تبدي زيادة في التغيرات في النضج الخلوي

وبالتالي زيادة في النشاط التكاثري أي زيادة عدد الخلايا في طور التكاثر وبالتالي زيادة في تعبيرية مشعر Ki-67، وهذا يتوافق مع دراسة سابقة أظهرت أن الـ ki-67 تم التعبير عنه في الطبقات فوق القاعدية ويزداد مع شدة سوء التصنع البشروي (Gonzalez-Moles et al., 2000)، كما توافقت هذه النتائج مع دراسة Birajdar وزملائه الذين وجدوا بأن تعبيرية مشعر التلوين Ki-67 بغض النظر عن العمر والجنس والموقع توزعت في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية والشائكة من سوء التصنع البشروي الفموي وازداد المشعر في الحالات عالية الخطورة من سوء التصنع البشروي الفموي مقارنة بالحالات منخفضة الخطورة (Birajdar et al., 2014)، وتوافقت نتائج دراستنا مع دراسة Kumar وزملاؤه حيث وجد تعبيرية إيجابية لـ Ki-67 وتزداد في الحالات عالية الخطورة مقارنة مع الحالات منخفضة الخطورة من سوء التصنع البشروي الفموي (Kumar et al., 2015).

أبدى سوء التصنع البشروي الفموي البسيط أقل تعبيرية لمشعر Ki-67 وعند مقارنة تعبيريته مع البشرة الفموية الطبيعية كانت أكثر بقليل ولكن لم نجد فروقاً دالة إحصائياً، ونستنتج بذلك أنه من الصعب التنبؤ بتشخيص آفات سوء التصنع البشروي البسيط في المراحل المبكرة لأنها ليست شديدة العدوانية ونشاطها التكاثري قريب من البشرة الطبيعية وهذا يتوافق مع دراسة Dwivedi وزملاؤه (Dwivedi et al., 2013).

أما في سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط زادت عدد الطبقات التي تبدي زيادةً في النشاط التكاثري وبالتالي زيادة بتعبيرية مشعر الانقسام Ki-67، ولم تتوافق نتائجنا مع دراسة Takeda وزملائه حيث لم يجد فروقاً دالة إحصائياً بين سوء التصنع المتوسط والبشرة

الفموية الطبيعية فقد كانت الفروق في سوء التصنع الشديد والسرطان الموضع (Takeda et al., 2006) وقد نعزو ذلك إلى صغر حجم العينة لديهم مقارنةً بدراستنا.

وفي سوء التصنع البشروي الفموي الشديد زادت التعبيرية النووية لمشعر Ki-67، ونفسر ذلك بأن التعبيرية النووية لـKi-67 مرتفعة في سوء التصنع البشروي الفموي الشديد بسبب زيادة الطبقات الخلوية المتكاثرة وبالتالي تملك ميلاً أكبر للتحول الخبيث وهذا يتوافق مع دراسة Dwivedi وزملائه الذين قاموا بتقييم تعبيرية Ki-67 في الطبقات النسيجية في سوء التصنع، ووجدو أن زيادة التعبيرية تزداد مع زيادة شدة سوء التصنع (Dwivedi et al., 2013).

3: مناقشة تعبيرية Ki-67 في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي:

أبدت جميع العينات المدروسة تعبيرية إيجابية لـ Ki-67 في أنوية الخلايا لكن بدرجات مختلفة من التوزع والتوضع وكانت قيمة التعبيرية مرتفعة إذ أن متوسط التعبيرية في هذه المجموعة كان (42.87)، وبناءً على نتائج الدراسة الإحصائية وجدنا أن تعبيرية الـ Ki-67 مرتفعة في مجموعة السرطان شائك الخلايا البشّروي الفموي مقارنةً بالبشرة الفموية الطبيعية مع فروق دالة إحصائياً إذ أن **P=0.000**، وعند إجراء المقارنة الثنائية بين البشرة الفموية الطبيعية والدرجات النسيجية المختلفة من السرطان وجدنا بأن تعبيرية الـ Ki-67 في السرطان شائك الخلايا جيد التمايز منخفضة وتوزعت التعبيرية في محيط الأعشاش الورمية ويوجد فروق دالة إحصائياً عند المقارنة مع البشرة الفموية الطبيعية إذ أن P=0.000، والتعبيرية في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي متوسط التمايز كانت أكثر توضعاً حيث توزعت في محيط الأعشاش الورمية وبعض الخلايا في مراكز الأعشاش مع وجود

فروق دالة إحصائياً بينها وبين البشرة الفموية الطبيعية إذ أن P=0.000، أمّا التعبيرية في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي منخفض التمايز كانت مرتفعة وأكثر توضعاً حيث توزعت التعبيرية بشكل منتشر في محيط الأعشاش الورمية وفي مراكز الأعشاش مع وجود فروق دالة إحصائياً بينها وبين البشرة الفموية الطبيعية إذ أن P=0.000، وتم وضع نسبة لقابلية تحول الطلاوة إلى سرطان شائك الخلايا البشروي الفموي لتكون مرتبطة بشكل مباشر مع شدة تغيرات سوء تصنع البشروي الفموي، وهي تتراوح بين 5% لطلاوة تُظهر سوء تصنع بشروي خفيف، إلى 43% لطلاوة تُظهر سوء تصنع بشروي متوسط إلى شديد التمايز (MacCallum and Hall, 2000).

وكشفت العديد من الدراسات أن تكاثر الخلايا التي تم قياسها بواسطة تعبيرية الـ Ki-67 ترتبط ارتباطاً كبيراً بالدرجات النسيجية للسرطان شائك الخلايا البشروي الفموي (Tumuluri et al., 2002).

ونفسر توزع الخلايا الإيجابية لـKi-67 في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي جيد التمايز في محيط الأعشاش الورمية أن هذه الخلايا أقل تمايزاً وتحتوي على انقسامات أما الخلايا في مراكز الأعشاش الورمية أكثر تمايزاً لذلك تملك القدرة على إفراز القرنين، وعند مقارنة تعبيرية الـ Ki-67 مع البشرة الفموية الطبيعية لم نجد فروقاً دالة إحصائياً وهذا يتوافق مع دراسة Birajdar وزملاؤه الذين قاموا بالتحري عن إثبات ووجود ونمط توضع التكاثر الخلوي في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي بإستخدام أضداد الـ Ki-67 حيث توضع المشعر في محيط الأعشاش الورميّة من السرطان شائك الخلايا الفموي وافترضت الدراسة بأن مشعر تلوين Ki-67 يقدم معلومات مفيدة عن تصنيف السرطان شائك الخلايا البشروي

الفموي (Birajdar et al., 2014)، ومع دراسة Dwivedi وزملائه (Dwivedi et al., 2013). كما توافقت نتائج دراستنا مع دراسة saito وزملائه الذين قاموا بفحص البروتينات المرتبطة بدورة الخلية بواسطة التلوين المناعي الكيمائي النسيجي في السرطان الثؤلولي (جيد التمايز) والسرطان شائك الخلايا المتطور لتحديد الشذوذ في دورة الخلية المرتبطة بتعبير هذه البروتينات ووجدوا ان هذه البروتينات" ومنها بروتين Ki-67 " تزداد وفقاً للنشاط التكاثري أو تطور الورم (Saito et al., 1999).

أما في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي متوسط التمايز لوحظت تعبيرية لـKi-67 في كِلا المناطق المحيطية وجزء من المناطق المركزية من الأعشاش الورمية وهذه يفسر الزيادة في عدد الخلايا المتكاثرة وبالتالي فهو أقل تمايزاً من السرطان جيد التمايز، وعند مقارنة التعبيرية مع البشرة الفموية الطبيعية وجدنا فروقاً دالة إحصائياً وهذا يتوافق مع دراسة Dwivedi وزملائه (Dwivedi et al., 2013).

كانت تعبيرية الـ Ki-67 في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي ضعيف التمايز منتشرةً في كِلا المناطق الطرفية ومعظم المناطق المركزية من الأعشاش الورمية وهذا مايفسر قلّة تمايز هذه الدرجة من السرطان وزيادة عدد الخلايا التي تبدي النشاط التكاثري وهذا يرتبط مع زيادة عدوانية الورم، وعند مقارنة التعبيرية مع البشرة الفموية الطبيعية وجدنا فروقاً دالة إحصائياً وهذا يتوافق مع دراسة Dwivedi وزملائه (Dwivedi et al., 2013).

4: مناقشة الفرق بين مجموعة سوء التصنع البشروي الفموي ومجموعة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي:

عند مقارنة التعبيرية بين مجموعة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي جيد التمايز مع سوء التصنع البشروي البسيط وجدنا فروقاً دالة إحصائياً، أما عند مقارنة التعبيرية في مجموعة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي مع سوء التصنع البشروي الفموي المتوسط والشديد لم نجد فروقاً دالة إحصائياً وهذا يدل على أنه كلما زادت شدة سوء التصنع زادت احتمالية التحول للخباثة، وهذا توافق مع دراسة Dwivedi وزملائه(Dwivedi et al., 2013).

الباب الخامس

الإستنتاجات

CONCLUSION

نستنتج ضمن إمكانيات هذا البحث:

1- يمكن استخدام واسم التكاثر الخلوي Ki-67 في تشخيص حالات النشاط الانقسامي، وفي تقييم شدة أو درجات سوء التصنع البشروي الفموي لكنه بحاجة الى مؤشرات داعمة سريرياً.

2- يزداد واسم الـ Ki-67 في حالات سوء التصنع البشروي الفموي الشديدة.

3- يمكن استخدام واسم الـ Ki-67 في تقييم درجة السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي.

الباب السادس

التوصيات والمقترحات

SUGGESTION AND RECOMMENDATION

التوصيات:

نوصي بزيادة الاهتمام بالتلوين المناعي لواسم الـKi-67 للخزعات المأخوذة من الحفرة الفموية وماحولها لفائدتها في وضع التشخيص المناسب وتقييم المعطيات التنبؤية لسير الآفة.

المقترحات:

1- نقترح إجراء دراسة تضم أنواعاً أخرى من السرطانات البشروية الفموية.

2- نقترح إجراء دراسة تضم أنواعاً أخرى من الأفات قبيل السرطانية كالحزاز المنبسط التقرحي.

3- نقترح إجراء دراسةٍ تضم أوراماً حميدة في الحفرة الفموية.

الباب السابع

المراجع

REFERENCES

A

.2018Erratum: Health-related quality of life of patients with squamous cell carcinoma: a comparison according to tumor location. Braz Oral Res. 2017;31:e105. *Braz Oral Res,* 32**,** e105err.

ALISON, M. R. 1995. Assessing cellular proliferation: what's worth measuring? *Hum Exp Toxicol,* 14**,** 935-44.

ALLEGRA, C. J., PAIK, S., COLANGELO, L. H., PARR, A. L., KIRSCH, I., KIM, G., KLEIN, P., JOHNSTON, P. G., WOLMARK, N. & WIEAND, H. S. 2003. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: A national cancer institute–national surgical adjuvant breast and bowel project collaborative study. *Journal of Clinical Oncology,* 21**,** 241-250.

ALTER, O. 2004. Novel genome-scale correlation between DNA replication and RNA transcription during the cell cycle in yeast is predicted by data-driven models.

ALTER, O. & GOLUB, G. H. 2004. Integrative analysis of genome-scale data by using pseudoinverse projection predicts novel correlation between DNA replication and RNA transcription . *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 101**,** 16577-16582.

AMON, A., IRNIGER, S. & NASMYTH, K. 1994. Closing the cell cycle circle in yeast: G2 cyclin proteolysis initiated at mitosis persists until the activation of G1 cyclins in the next cycle . *Cell,* 77**,** 1037-1050.

ANGIERO, F., BERENZI, A., BENETTI, A., ROSSI, E., DEL SORDO, R., SIDONI, A., STEFANI, M. & DESSY, E. 2008. Expression of p16, p53 and Ki-67 proteins in the progression of epithelial dysplasia of the oral cavity. *Anticancer research*.2539-2535 ,28 ,

ANKLE, M. R., KALE, A. D. & NAYAK, R. 2007. Mast cells are increased in leukoplakia, oral submucous fibrosis, oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology,* 11**,** 18.

B

BAGAN, J. V., JIMÉNEZ-SORIANO, Y., DIAZ-FERNANDEZ, J. M., MURILLO-CORTÉS, J., SANCHIS-BIELSA, J. M., POVEDA-RODA, R. & BAGAN, L. 2011. Malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral squamous cell carcinoma: a series of 55 cases. *Oral oncology,* 47**,** 732-7.35

BAGAN, J. V., MURILLO, J., POVEDA, R., GAVALDA, C., JIMENEZ, Y. & SCULLY, C. 2004. Proliferative verrucous leukoplakia: unusual locations of oral squamous cell carcinomas, and field cancerization as shown by the appearance of multiple OSCCs. *Oral oncology,* 40**,** 440-443.

BAJPAI, M. & GUPTA, S. 2018. Dermoscopy Of Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Ayub Med Coll Abbottabad,* 30**,** 315-316.

BARNES, L., EVESON, J. W., REICHART, P. & SIDRANSKY, D. 2005a. *Pathology and genetics of head and neck tumours*, IARC.

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

BIRAJDAR, S. S., RADHIKA, M., PAREMALA, K., SUDHAKARA, M., SOUMYA, M. & GADIVAN, M. 2014 .Expression of Ki-67 in normal oral epithelium, leukoplakic oral epithelium and oral squamous cell carcinoma. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP,* 18**,** 169.

BIRKELAND, A. C., LUDWIG, M. L., MERAJ, T. S., BRENNER, J. C. & PRINCE, M. E. 2015 .The tip of the iceberg: clinical implications of genomic sequencing projects in head and neck cancer. *Cancers,* 7**,** 2094-2109.

BOOTH, D. G., TAKAGI, M., SANCHEZ-PULIDO, L., PETFALSKI, E., VARGIU, G., SAMEJIMA, K., IMAMOTO, N., PONTING, C. P., TOLLERVEY, D ,.EARNSHAW, W. C. & VAGNARELLI, P. 2014. Ki-67 is a PP1-interacting protein that organises the mitotic chromosome periphery. *Elife,* 3**,** e01641.

BORDER, K. 2016. Notes on the implicit function theorem. California Institute of Technology, Division of the Humanities and Social Sciences (2013.(

BRENNAN, C. W., VERHAAK, R. G., MCKENNA, A., CAMPOS, B., NOUSHMEHR, H., SALAMA, S. R., ZHENG, S., CHAKRAVARTY, D., SANBORN, J. Z. & BERMAN, S. H. 2013. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell,* 155**,** 462-477.

BULLWINKEL, J., BARON-LUHR, B., LUDEMANN, A., WOHLENBERG, C., GERDES, J. & SCHOLZEN, T. 2006. Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells. *J Cell Physiol,* 206**,** 624-35.

BUXANT, F., ANAF, V., SIMON, P., FAYT, I. & NOEL, J. C. 2002. Ki-67 immunostaining activity is higher in positive axillary lymph nodes than in the primary breast tumor. *Breast Cancer Res Treat,* 75**,** 1-3.

C

CACCETTA, T. P., DESSAUVAGIE, B., MCCALLUM, D. & KUMARASINGHE, S. P. 2012. Multiple minute digitate hyperkeratosis: a proposed algorithm for the digitate keratoses. *Journal of the American Academy of Dermatology,* 67**,** e49-e55.

CAMERON, I. L. & GREULICH, R. C. 1963. Evidence for an essentially constant duration of DNA synthesis in renewing epithelia of the adult mouse. *The Journal of cell biology,* 18**,** 31-40.

CATTORETTI, G., BECKER, M. H., KEY, G., DUCHROW, M., SCHLÜUTER, C., GALLE, J. & GERDES, J. 1992. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and

MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *The Journal of pathology,* 168**,** 357-363.

CHEANG, M. C., CHIA, S. K., VODUC, D., GAO, D., LEUNG, S., SNIDER, J., WATSON, M., DAVIES, S., BERNARD, P. S., PARKER, J. S., PEROU ,C. M., ELLIS, M. J. & NIELSEN, T. O. 2009. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst,* 101**,** 736-50.

CHEN, A., MARTIN, A., DALZIELL, R., MCKENZIE, C., LOWE, P., ERIS, J., SCOLYER, R., DHILLON, H., VARDY, J. & BIELSKI, V. 2016. A phase II randomized controlled trial of nicotinamide for skin cancer chemoprevention in renal transplant recipients. *British Journal of Dermatology,* 175**,** 1073-1075.

COLOZZA, M., AZAMBUJA, E., CARDOSO, F., SOTIRIOU, C., LARSIMONT, D. & PICCART, M. J. 2005. Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: where are we now? *Ann Oncol,* 16**,** 1723-39.

CUBILLA, A. L., VELAZQUEZ, E. F., AMIN, M. B., EPSTEIN, J., BERNEY, D. M., CORBISHLEY, C. M. & PANEL ,I. P. T. 2018. The World Health Organisation 2016 classification of penile carcinomas: a review and update from the International Society of Urological Pathology expert-driven recommendations. *Histopathology,* 72**,** 893-904.

D

DE AZAMBUJA, E., CARDOSO, F., DE CASTRO, G., JR., COLOZZA, M., MANO, M. S., DURBECQ, V., SOTIRIOU, C., LARSIMONT, D., PICCART-GEBHART, M. J. & PAESMANS, M. 2007. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer,* 96**,** 1504-13.

DE SOUZA, C. P. & OSMANI, S. A. 2007. Mitosis, not just open or closed. *Eukaryotic cell,* 6**,** 1521-1527.

DIONNE, K. R., WARNAKULASURIYA, S., BINTI ZAIN, R. & CHEONG, S. C. 2015. Potentially malignant disorders of the oral cavity: current practice and future directions in the clinic and laboratory. *International journal of cancer,* 136**,** 503-515.

DONG, P., MADDALI, M. V., SRIMANI, J. K., THÉLOT, F., NEVINS, J. R., MATHEY-PREVOT, B. & YOU, L. 2014. Division of labour between Myc and G1 cyclins in cell cycle commitment and pace control. *Nature communications,* 5**,** 4750.

DOWSETT, M., NIELSEN, T. O., A'HERN, R., BARTLETT, J., COOMBES, R. C., CUZICK, J., ELLIS, M., HENRY, N. L., HUGH, J. C., LIVELY, T., MCSHANE, L., PAIK, S., PENAULT-LLORCA, F., PRUDKIN, L., REGAN, M., SALTER, J., SOTIRIOU, C., SMITH, I. E., VIALE, G., ZUJEWSKI, J. A. & HAYES, D. F. 2011. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst,* 103**,** 1656-64.

DWIVEDI, N., CHANDRA, S., KASHYAP, B., RAJ, V. & AGARWAL, A. 2013. Suprabasal expression of Ki-67 as a marker for the severity of oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *Contemporary clinical dentistry,* 4**,** 7.

E

EHRENKRANZ, R. A., WALSH, M .C., VOHR, B. R., JOBE, A. H., WRIGHT, L. L., FANAROFF, A. A., WRAGE, L. A. & POOLE, K. 2005. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics,* 116**,** 1353-1360.

F

FREIFELD, A. G., BOW, E. J., SEPKOWITZ, K. A., BOECKH, M. J., ITO, J. I., MULLEN, C. A., RAAD, I. I., ROLSTON, K. V., YOUNG, J.-A. H. & WINGARD, J. R. 2011. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases,* 52**,** e56-e93.

G

GAO, W. 2017. *Investigation of immune privilege in basal cell carcinoma.* University of British Columbia.

GAREWAL, H. S., MEYSKENS JR, F., KILLEN, D., REEVES, D., KIERSCH, T., ELLETSON, H., STROSBERG, A., KING, D. & STEINBRONN, K. 1990. Response of oral leukoplakia to beta-carotene. *Journal of clinical oncology,* 8**,** 1715-1720.

GAUTIER, T., DAUPHIN-VILLEMANT, C., ANDRE, C., MASSON, C., ARNOULT, J. & HERNANDEZ-VERDUN, D. 1992. Identification and characterization of a new set of nucleolar ribonucleoproteins which line the chromosomes during mitosis. *Exp Cell Res,* 200**,** 5-15.

GERDES, J., LEMKE, H., BAISCH, H., WACKER, H.-H., SCHWAB, U. & STEIN, H. 1984a. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *The journal of immunology,* 133**,** 1710-1715.

GERDES, J., LEMKE, H., BAISCH, H., WACKER, H. H., SCHWAB, U. & STEIN, H. 1984b. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol,* 133**,** 1710-5.

GERDES, J., LI, L., SCHLUETER, C., DUCHROW, M., WOHLENBERG, C., GERLACH, C., STAHMER, I., KLOTH, S., BRANDT, E. & FLAD, H.-D. 1991. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *The American journal of pathology,* 138**,** 867.

GOLMOHAMMADI, R. & PEJHAN, A. 2012. The prognostic value of the P53 protein and the Ki67 marker in breast cancer patients. *J Pak Med Assoc,* 62**,** 871-875.

GONZALEZ-MOLES, M. A., RUIZ-AVILA, I., RODRIGUEZ-ARCHILLA, A. & MARTINEZ-LARA, I. 2000. Suprabasal expression of Ki-67 antigen as a marker for the presence and severity of oral epithelial dysplasia. *Head & neck,* 22**,** 658-661.

H

HEIDEBRECHT, H. J., BUCK, F., HAAS, K., WACKER, H. H. & PARWARESCH, R. 1996. Monoclonal antibodies Ki-S3 and Ki-S5 yield new data on the 'Ki-67' proteins. *Cell Prolif,* 29**,** 413-25.

HINTHER, A., NAKONESHNY, S. C., DORT, J. C., CHANDARANA, S. P. & MATTHEWS, T. W. 2016. Historical compliance rates for providing postoperative radiotherapy in oral cavity squamous cell carcinoma. *Head Neck,* 38**,** 1525-9.

I

ICHIKAWA, M., ISHII, K., NAKAJIMA, T. & MOGI, K. 1997. The overexpression of p53 and proliferative activity in precancerous and cancerous lesions of oral squamous epithelium. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR,* 16**,** 141-146.

INWALD, E. C., KLINKHAMMER-SCHALKE, M., HOFSTADTER, F., ZEMAN, F., KOLLER, M., GERSTENHAUER, M. & ORTMANN, O. 2013. Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat,* 139**,** 539-52.

J

JANES, S. M., LOWELL, S. & HUTTER, C. 2002. Epidermal stem cells. *The Journal of pathology,* 197**,** 479-491.

K

KASHIMA, H. K., LEVIN, L. S., KUTCHER, M., DE VILLIERS, E.-M., KESSIS, T. & SHAH, K. 1990. Human papillomavirus in squamous cell carcinoma, leukoplakia, lichen planus, and clinically normal epithelium of the oral cavity. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology,* 99**,** 55-61.

KEATING, J. T., CVIKO, A., RIETHDORF, S., RIETHDORF, L., QUADE, B. J., SUN, D., DUENSING, S., SHEETS, E. E., MUNGER, K. & CRUM, C. P. 2001. Ki-67, cyclin E, and p16 INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *The American journal of surgical pathology,* 25**,** 884-891.

KEE, N., SIVALINGAM, S., BOONSTRA, R. & WOJTOWICZ, J. 2002. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. *Journal of neuroscience methods,* 115**,** 97-105.

KRISHNA, A., SINGH, R. K., SINGH, S., VERMA, P., PAL, U. S. & TIWARI, S. 2014. Demographic risk factors, affected anatomical sites and clinicopathological profile for oral squamous cell carcinoma in a north Indian population. *Asian Pac J Cancer Prev,* 15**,** 6755-60.

KUMAR, K. V., CHAITHANYA, K., PUNDE, P., THORAT, A., JANGAM, A. G. & DEEPTHI, S. 2015. Comparative Evaluation of Imunohistochemical Expression of Ki-67 in Oral Lichen Planus, Oral Leukoplakia and Normal Mucosa Cases. *Journal of International Oral Health,* 7**,** 82.

KUMAR, V. & ROBBINS, S. L. 2007. Robbins basic pathology. *Philadelphia,* PA, Saunders/Elsevier.

L

LEE, J. J., HONG, W. K., HITTELMAN, W. N., MAO, L., LOTAN, R., SHIN, D. M., BENNER, S. E., XU, X.-C., LEE, J. S. & PAPADIMITRAKOPOULOU, V. M. 2000. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translational research. *Clinical Cancer Research,* 6**,** 1702-1710.

LEMAIRE-ADKINS, R., RADKE, K. & HUNT, P. A. 1997. Lack of checkpoint control at the metaphase/anaphase transition: a mechanism of meiotic nondisjunction in mammalian females. *The Journal of cell biology,* 139**,** 1611-1619.

LI, L. T., JIANG, G., CHEN, Q. & ZHENG, J. N. 2015. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. *Molecular medicine reports,* 11**,** 1566-1572.

LIMA, J. S., PINTO DDOS, S., JR., SOUSA, S. O. & CORREA, L. 2012. Oral leukoplakia manifests differently in smokers and non-smokers. *Braz Oral Res,* 26**,** 543-9.

LIPPMANI, S. & HONG, W. H. S. W .K. 1996. Frequent microsatellite alterations at chromosomes 9p21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their value in cancer risk assessment. *Nature medicine,* 2.

LIU, S. C. & KLEIN-SZANTO, A. 2000. Markers of proliferation in normal and leukoplakic oral epithelia. *Oral oncology,* 36**,** 145-151.

LUMERMAN, H., FREEDMAN, P. & KERPEL, S. 1995. Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics,* 79**,** 3.329-21

M

MACCALLUM, D. E. & HALL, P. A. 2000. The biochemical characterization of the DNA binding activity of pKi67. *The Journal of pathology,* 191**,** 286-298.

MCCULLOUGH, M., JABER, M., BARRETT, A., BAIN, L., SPEIGHT, P. & PORTER, S. 2002. Oral yeast carriage correlates with presence of oral epithelial dysplasia. *Oral oncology,* 38**,** 391-393.

MEHROTRA, R., GUPTA, A., SINGH, M. & IBRAHIM, R. 2006. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Molecular cancer,* 5**,** 11.

MOCHIDA, S., IKEO, S., GANNON, J. & HUNT, T. 2009. Regulated activity of PP2A–B55δ is crucial for controlling entry into and exit from mitosis in Xenopus egg extracts. *The EMBO journal,* 28**,** 2777-2785.

MUTO, M., NAKANE, M., KATADA, C., SANO, Y ,.OHTSU, A., ESUMI, H., EBIHARA, S. & YOSHIDA, S. 2004. Squamous cell carcinoma in situ at oropharyngeal and hypopharyngeal mucosal sites. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society,* 101**,** 1375-1381.

N

NISHIMURA, R., OSAKO ,T., OKUMURA, Y., HAYASHI, M., TOYOZUMI, Y. & ARIMA, N. 2010. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer subtype and a predictor of recurrence time in primary breast cancer. *Exp Ther Med,* 1**,** 747-754.

NIU, G., SUN, X., CAO, Q., COURTER, D., KOONG, A., LE, Q. T., GAMBHIR, S. S. & CHEN, X. 2010. Cetuximab-based immunotherapy and radioimmunotherapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res,* 16**,** 2095-105.

O

OHTA, S., BUKOWSKI-WILLS, J. C., SANCHEZ-PULIDO, L., ALVES FDE, L., WOOD, L ,.CHEN, Z. A., PLATANI, M., FISCHER, L., HUDSON, D. F., PONTING, C. P., FUKAGAWA, T., EARNSHAW, W. C. & RAPPSILBER, J. 2010. The protein composition of mitotic chromosomes determined using multiclassifier combinatorial proteomics. *Cell,* 142**,** 810-21.

P

PADAYACHEE, S., PECK, M. T., DREYER, W. P., ALLIE, A. & AFROGHEH, A. 2012. Oral medicine case book 37. Proliferative verrucous leukoplakia. *SADJ,* 67**,** 78-80.

PARK, D., KARESEN, R., NOREN, T. & SAUER, T. 2007. Ki-67 expression in primary breast carcinomas and their axillary lymph node metastases: clinical implications. *Virchows Arch,* 451**,** 11-8.

PARTRIDGE, M., PATEROMICHELAKIS, S., PHILLIPS, E., EMILION, G. G., A'HERN, R. P. & LANGDON, J. D. 2000. A case-control study confirms that microsatellite assay can identify patients at risk of developing oral squamous cell carcinoma within a field of cancerization. *Cancer Research,* 60**,** 3893-3898.

PINDBORG, J. 1955. Clinical, radiographic, and histological aspects of intraalveolar fractures of upper central incisors. *Acta Odontologica Scandinavica,* 13**,** 41-67.

PITIYAGE, G., TILAKARATNE, W., TAVASSOLI, M. & WARNAKULASURIYA, S. 2009. Molecular markers in oral epithelial dysplasia. *Journal of oral pathology & medicine,* 38**,** 737-752.

PRAMILA, T., WU, W., MILES, S., NOBLE, W. S & .BREEDEN, L. L. 2006. The Forkhead transcription factor Hcm1 regulates chromosome segregation genes and fills the S-phase gap in the transcriptional circuitry of the cell cycle. *Genes & development,* 20**,** 2266-2278.

Q

QUERZOLI, P., ALBONICO, G., FERRETTI, S ,.RINALDI, R., MAGRI, E., INDELLI, M. & NENCI, I. 1996. MIB-1 proliferative activity in invasive breast cancer measured by image analysis. *J Clin Pathol,* 49**,** 926-30.

R

RANGANATHAN, K., ROOBAN, T. & RAO, U. M. 2015. Oral squamous cell carcinoma in patients with and without predisposing habits in glossal and extra-glossal site: An institutional experience in South India. *Indian J Cancer,* 52**,** 625-7.

REAGAN, J. W. 1958. The nature of the cells originating in so-called "precancerous" lesions of the uterine cervix .*Obstetrical & gynecological survey,* 13**,** 157-179.

REIBEL, J. 2003. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine,* 14**,** 47-62.

RIBEIRO, A. S., SALLES, P. R., DA SILVA, T. A. & MESQUITA, R. A. 2010. A review of the nonsurgical treatment of oral leukoplakia. *International journal of dentistry,* 2010.

ROSS, W. & HALL, P. 1995. Ki67: from antibody to molecule to understanding? *Clinical molecular pathology,* 48**,** M113.

S

SAITO, T., NAKAJIMA, T. & MOGI, K. 1999. Immunohistochemical analysis of cell cycle-associated proteins p16, pRb, p53, p27 and Ki-67 in oral cancer and precancer with special reference to verrucous carcinomas. *Journal of oral pathology & medicine,* 28**,** 226-232.

SAKAUE-SAWANO, A., KUROKAWA, H., MORIMURA, T., HANYU, A., HAMA, H., OSAWA, H., KASHIWAGI, S., FUKAMI, K., MIYATA, T. & MIYOSHI, H. 2008. Visualizing spatiotemporal dynamics of multicellular cell-cycle progression. *Cell*.498-487 ,132 ,

SASAKI, T., KISHIMOTO, S., KAWABATA, K., SATO, Y. & TSUCHIDA, T. 2015. Risk factors for cervical lymph node metastasis in superficial head and neck squamous cell carcinoma. *J Med Dent Sci,* 62**,** 19-24.

SCHEPMAN, K., VAN DER MEIJ, E., SMEELE, L & .VAN DER WAAL, I. 1998. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands. *Oral oncology,* 34**,** 270-275.

SCHOLZEN, T. & GERDES, J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of cellular physiology,* 182**,** 311-322.

SHERR, C. J. 1996. Cancer cell cycles. *Science,* 274**,** 1672-1677.

SIDOROVA, J. M., MIKESELL, G. E. & BREEDEN, L. L. 1995. Cell cycle-regulated phosphorylation of Swi6 controls its nuclear localization. *Molecular biology of the cell,* 6**,** 1641-1658.

SLEVIN, F., SUBESINGHE, M., RAMASAMY, S., SEN, M., SCARSBROOK, A. & PRESTWICH, R. 2015. Assessment of outcomes with delayed 18F-FDG PET-CT response assessment in head and neck squamous cell carcinoma. *The British journal of radiology,* 88**,** 20140592.

SMITH, J. & MARTIN, L. 1973. Do cells cycle? *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 70**,** 1263-1267.

SPEIGHT, P. M. 2007. Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. *Head and neck pathology,* 1**,** 61-66.

SPELLMAN, P. T., SHERLOCK, G., ZHANG, M. Q., IYER, V. R., ANDERS, K., EISEN, M. B., BROWN, P. O., BOTSTEIN, D. & FUTCHER, B. 1998. Comprehensive identification of cell cycle–regulated genes of the yeast Saccharomyces cerevisiae by microarray hybridization. *Molecular biology of the cell,* 9**,** 3273-3297.

STARBORG, M., GELL, K., BRUNDELL, E. & HOOG, C. 1996. The murine Ki-67 cell proliferation antigen accumulates in the nucleolar and heterochromatic regions of interphase cells and at the periphery of the mitotic chromosomes in a process essential for cell cycle progression. *J Cell Sci,* 109 (Pt 1)**,** 143-53.

T

TAKEDA, T., SUGIHARA, K., HIRAYAMA, Y., HIRANO, M., TANUMA, J. I. & SEMBA, I. 2006. Immunohistological evaluation of Ki-67, p63, CK19 and p53 expression in oral epithelial dysplasias. *Journal of oral pathology & medicine,* 35**,** 369-375.

TAWFIK, K., KIMLER, B. F., DAVIS, M. K., FAN, F. & TAWFIK, O. 2013. Ki-67 expression in axillary lymph node metastases in breast cancer is prognostically significant. *Hum Pathol,* 44**,** 39-46.

TRIHIA, H., MURRAY, S., PRICE, K., GELBER, R. D., GOLOUH, R., GOLDHIRSCH, A., COATES, A. S., COLLINS, J., CASTIGLIONE-GERTSCH, M. & GUSTERSON, B. A. 2003. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? *Cancer,* 97**,** 1321-31.

TUMULURI, V., THOMAS, G. & FRASER, I. 2002. Analysis of the Ki-67 antigen at the invasive tumour front of human oral squamous cell carcinoma. *Journal of oral pathology & medicine,* 31**,** 598-604.

U

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

URRUTICOECHEA, A., SMITH, I. E. & DOWSETT, M. 2005. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *Journal of clinical oncology,* 23**,** 7212-7220.

V

VAN DER WAAL, I. 2015. Oral leukoplakia, the ongoing discussion on definition and terminology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal,* 20**,** e685-92.

VAN HOOSER, A. A., YUH, P & .HEALD, R. 2005. The perichromosomal layer. *Chromosoma,* 114**,** 377-88.

VANNESTE, D., TAKAGI, M., IMAMOTO, N. & VERNOS, I. 2009. The role of Hklp2 in the stabilization and maintenance of spindle bipolarity. *Curr Biol,* 19**,** 1712-7.

VERONESE, S. M., MAISANO, C & .SCIBILIA, J. 1995. Comparative prognostic value of Ki-67 and MIB-1 proliferation indices in breast cancer. *Anticancer Res,* 15**,** 2717-22.

W

WAGA, S., HANNON, G. J., BEACH, D. & STILLMAN, B. 1994. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA. *Nature,* 369**,** 574-8.

WANG, C.-J., LIN, Y.-N., HUANG, S.-W. & CHANG, C.-H. 2011. Low dose oral desmopressin for nocturnal polyuria in patients with benign prostatic hyperplasia: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *The Journal of urology,* 185**,** 219-223.

WANG, J. D. & LEVIN, P. A. 2009. Metabolism, cell growth and the bacterial cell cycle. *Nature Reviews Microbiology,* 7**,** 822.

WARNAKULASURIYA, S., REIBEL, J., BOUQUOT, J. & DABELSTEEN, E. 2008. Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. *Journal of Oral Pathology & Medicine,* 37**,** 127-133.

WHITE, M. A., RILES, L. & COHEN, B. A. 2008. A systematic screen for transcriptional regulators of the yeast cell cycle. *Genetics*.

WIN, S. S., NISHIOKA, M., MYINT, B. & TAKAGI, M. 2005. Assessment of p53 protein expression in leukoplakia, oral submucous fibrosis and oral lichen planus in Myanmar patients. *Oral Medicine & Pathology,* 10**,** 15-21.

Y

YANG, M. H ,.CHEN, C. L., CHAU, G. Y., CHIOU, S. H., SU, C. W., CHOU, T. Y., PENG, W. L. & WU, J. C. 2009. Comprehensive analysis of the independent effect of twist and snail in promoting metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology,* 50**,** 1464-1474.

YANG, S. W ,.LEE, Y. S., CHANG, L. C., HWANG, C. C. & CHEN, T. A. 2012. Diagnostic significance of narrow-band imaging for detecting high-grade dysplasia, carcinoma in situ, and carcinoma in oral leukoplakia. *Laryngoscope,* 122**,** 2754-61.

YANIK, E. L., KATKI, H. A., SILVERBERG, M. J., MANOS, M. M., ENGELS, E. A. & CHATURVEDI, A. K. 2015. Leukoplakia, Oral Cavity Cancer Risk, and Cancer Survival in the U.S. Elderly. *Cancer Prev Res (Phila),* 8**,** 857-63.

Z

ZABAGLO, L., SALTER, J., ANDERSON, H., QUINN, E., HILLS, M., DETRE, S ,.A'HERN, R. & DOWSETT, M. 2010. Comparative validation of the SP6 antibody to Ki67 in breast cancer. *J Clin Pathol,* 63**,** 800-4.

ZAID, K. W. 2014. Immunohistochemical Assessment of E-cadherin and beta-catenin in the Histological Differentiations of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev,* 15**,** 8847-53.

ZOELLER, J., FLENTJE, M., SINN, P. & BORN, I. 1994. Evaluation of AgNOR and Ki-67 antigen as cell kinetic parameters in oral dysplasias and carcinomas. *Analytical cellular pathology: the journal of the European Society for Analytical Cellular Pathology,* 7**,** 77-88.

الملخص:

الملخص باللغة العربية:

المقدمة: يبدو أن تكاثر الخلايا الغير طبيعي يمكن أن يكون مؤشراً للتكون الورميّ، ويرتبط بروتين Ki-67 بشكل وثيق مع تكاثر الخلايا ويستخدم في التشريح المرضي كمؤشر لتحديد نمو الخلايا في الأورام البشروية.

الهدف من البحث: التحقق من تعبيرية الـ Ki-67 في الدرجات المختلفة من سوء التصنع البشروي الفموي والسرطان شائك الخلايا باستخدام جسم مضاد وحيد نسيلة للـKi-67، ومقارنة هذه التعبيرية مع تعبيرية Ki-67 في البشرة الفموية الطبيعية كعينة شاهدة.

المواد والطرائق: تألفت العينة من 30 عينة مثبة بالفورمول ومدمجة بالبارافين لسوء التصنع البشروي الفموي، و30 أخرى من السرطان شائك الخلايا الفموي و10 للبشرة الفموية الطبيعية، والتي لوَّنت تقليدياً الهيماتوكسيلين -إيوزين ومناعياً بالضد وحيد النسيلة للـ Ki-67.

النتائج: اقتصرت تعبيرية الـ Ki-67 على الطبقة القاعدية من البشرة الفموية الطبيعية في حين أن الخلايا الإيجابية للـ Ki-67 في سوء التصنّع البشروي الفموي (OED) كانت موجودة في الطبقات القاعدية، وفوق القاعدية والشائكة، وتعبيرية الـ Ki-67 تزداد في حالات عالية الخطورة مقارنة بالحالات منخفضة الخطورة من OED. توضعت الخلايا الإيجابية للـ Ki-67 في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي جيد التمايز في المناطق المحيطية من الأعشاش الورمية مقارنة بالمركز، في السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي

متوسط التمايز توضعت الخلايا الإيجابية بكِلا المناطق المحيطية والمركزية من الأعشاش الورمية بينما كانت متوضعة بشكل منتشر في معظم مناطق السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي ضعيف التمايز. يشير التحليل الإحصائي إلى وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين تعبير (OED) و (NOE) ، (OSCC) و (NOE) وعدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين (OED) و (OSCC).

الخلاصة: نستنتج من هذه الدراسة بإن مستضد Ki-67 يستخدم كواسم في تصنيف الدرجات النسيجية للـ OED، OSCC، وتعبيرية Ki-67 تزداد وفقاً لشدة سوء تصنع البشروي الفموي. تعبيرية Ki-67 تزداد وفقاً للنشاط التكاثر الخلوي وفي السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي الأقل تمايزاً.

الكلمات المفتاحية: مستضد Ki-67، سوء التصنّع البشروي الفموي (OED)، السرطان شائك الخلايا البشروي الفموي (OSCC)، البشرة الفموية الطبيعية (NOE).

الملخص باللغة الإنكليزية:

Abstract: The abnormal cell proliferation appears to be a may be a predictor of tumorigenesis, The Ki-67 protein is closely linked to cell proliferation and is used in pathogenesis as a marker to determine cell growth in human tumours.

The aim of the study: Investigate the expression of Ki-67 in grades of oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinomas using an anti-Ki-67 monoclonal antibody, and compare it with Ki-67 expression in normal oral epithelium as a control.

Materials & Methods: The sample consisted of 30 formalin-fixed, paraffin-embedded specimens of oral epithelial dysplasia (OED), 30 other of oral squamous cell carcinomas (OSCC), and 10 normal oral epithelium (NOE) were conventionally stained with hematoxylin and eosin and immunohistochemically stained with Ki-67 monoclonal antibody.

Results: Expression of Ki-67 was restricted to the basal of the epithelium of the normal oral epithelium whereas Ki-67 positive cells in oral epithelial dysplasia (OED) were located in the basal, suprabasal and spinous layers, expression of Ki-67 is increased in high-risk cases than the low-risk cases of OED. Ki-67 positive cells in well-differentiated oral squamous cell carcinoma were located in the periphery of the tumour nests than the

centre, in moderately-differentiated oral squamous cell carcinoma were located in both peripheral and part of a centre of the tumour nests whereas it was diffuse in most of the Poorly-differentiated oral squamous cell carcinoma. Statistical analysis indicates significant differences between the expression in (OED) and (NOE), (OSCC) and (NOE), and the absence of statistically significant differences between (OED) and (OSCC).

Conclusion: This study has concluded that Ki-67 antigen is used as a marker for the Classification histological grading of OED and OSCC, Expression of Ki-67 increased according to the severity of oral epithelial dysplasia. Expression of Ki-67 increased according to the cell proliferative activity and less differentiated oral squamous cell carcinoma.

Keywords: The Ki-67 antigen, Oral epithelial dysplasia (OED), Oral squamous cell carcinomas (OSCC), Normal oral epithelium (NOE).

الملحق

Appendix

AL Baath University
Journal of Al Baath University

جامعة البعث
مجلة جامعة البعث

قبول نشر بحث
طالب دراسات عليا

الرقم: ١٧٩٦
التاريخ ٢٦/ ٨ / 2018

إلى طالب الدراسات العليا **عامر بسام طقم**

كلية: طب الأسنان **جامعة: دمشق**

نود إعلامكم بقبول بحثكم الموسوم:

دراسة تعبيريّة Ki67 في الدرجات النسيجية المختلفة من سوء التصنع البشروي الفموي

للنشر في مجلة جامعة البعث بالمجلد **40** لعام **2018**

بالمشاركة مع السيد الدكتور: **شريف بركات**

بعد أن تم تحكيمه من قبل مختصين.

نشكر لكم هذه المساهمة الطيبة ونتطلع إلى استمرار تواصلكم مع مجلتنا ومدها بما لديكم من جديد والاطلاع على الأبحاث المنشورة في المجلة على موقع المجلة والرابط المدونين في أسفل الصفحة.

موقع الجامعة www.albaath-univ.edu.sy والرابط magazine @ albaath-univ.edu.sy

رئيس تحرير مجلة جامعة البعث للعلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية

أ.د. محمود الحداد

الطرائق الإحصائية التي تم استخدامها في تحليل البيانات هي:

1- تحليل التباين أحادي الجانب One-Way ANOVA:

يستخدم اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA للمقارنة في التباين بين أكثر من مجموعتين من القيم (لمتغيرات بارامترية ذات توزع طبيعي – أي تلك المتغيرات التي نستطيع حساب متوسط حسابي له معنى لها) أي مقارنة معيار معين بين عدة مجموعات منفصلة , إذ تحسب قيمة المعنوية (P=value) من إحصاء الاختبار (f) ثم مقارنتها بالقيمة (a=0.05) ، فعندما نعتمد مستوى الثقة 95% فإذا كان قيمة مستوى الدلالة يساوي أو أقل من 0.05 فإننا نقرر عدم تحقق الفرضية (فرضية العدم، أي عدم وجود فروق دالة بين المتوسطات)، ونقرر وجود الفروق الإحصائية بين اثنتين على الأقل من المجموعات المدروسة على الأقل، والعكس بالعكس.

2- طريقة Bonferroni لإجراء المقارنات الثنائية بين المتوسطات:

وهي طريقة للمقارنة الثنائية بين المجموعات المدروسة (أي للمقارنة بين كل زوج من متوسطات المتغير المدروس على حدة)، وتعتبر اختباراً بعدياً Post-Hoc Test يلي اختبار تحليل التباين ANOVA في حال تم رفض فرضية العدم المختبرة فيه لاكتشاف أي من المتوسطات يختلف اختلافاً جوهرياً عن المتوسطات الأخرى. وهو يعتمد من حيث المبدأ على اختبار T ستيودنت المعروف ولكن مع إدخال عامل تصحيح (وعامل التصحيح يساوي عدد المقارنات الثنائية المُجراة) نظراً لأن المقارنة تتم بين أكثر من مجموعتين اثنتين في الاختبار الذي يسبقه (أي اختبار تحليل التباين ANOVA).

3- اختبار كاي مربع Chi Square Test:

هو عبارة عن اختبار من الاختبارات المسماة الاختبارات اللابارامترية Non-parametric Tests (أي الاختبارات التي لا نستطيع حساب بارمتر أو معلم لها مثل المتوسط الحسابي والانحراف المعياري) ولاختبار كاي مربع أنواع عديدة، منها اختبار يستخدم لمعرفة إذا كان هناك استقلالية ما بين متغيرين مدروسين، وهو يعتمد على حساب نسبة تكرار حدوث ظاهرة ما في مجموعة أولى مقارنة بتكرارات حدوث الظاهرة نفسها في مجموعة أو مجموعات أخرى , ويظهر في الجدول الخاص بهذا الاختبار قيمة كاي مربع وقيمة مقدرة لمستوى الدلالة P-Value ، وقيمة مستوى الدلالة تُستخدم للإقرار فيما إذا كان المتغيران مستقلان أو مرتبطان، فعند مستوى الثقة 95% نقارن قيمة مستوى الدلالة مع القيمة 0.05، فإذا كانت أصغر منها أو تساويها فإننا نقرر أن المتغيرين مرتبطان ببعضهما ونقرر وجود الفروق الدالة بين المجموعات المدروسة في التكرارات. إن اختبار كاي مربع يسمح لنا بمعرفة استقلال أو ارتباط متغيرين ببعضهما ولكنه لا يعطينا أية معلومات عن اتجاه وشدة هذه العلاقة لذلك نلجأ لجداول التكرارات والنسب المئوية لتقرير طبيعة الفروقات الحاصلة إن وجدت.