مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (33) العدد (3) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (33) No. (3) 2011

تحري درجة تعبير الكولاجين IV في الغشاء القاعدي حول جزر خلايا السرطان البشروي شائك الخلايا الفموي

الدكتور شريف بركات*

(تاريخ الإيداع 19 / 9 / 2010. قُبِل للنشر في 22 / 5 /2011)

□ ملخّص □

مقدمة: تعتمد سرعة انتشار السرطان البشروي شائك الخلايا على مدى سرعة تخرب degradation أو عدم استمرارية Discontinuity الغشاء القاعدي، يعتبر تخرب الغشاء القاعدي المرحلة الأولى من غزو الخلايا السرطانية cancer cell invasion واجتياحها metastasis مما له أثر بالغ على حياة المريض وإنذار الحالة . **الهدف من البحث:** دراسة درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي حول الجزر الورمية في سياق الإصابة بالسرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفموية . **المواد والطرق:** 25 حالة سرطان شائك الخلايا مأخوذة من مناطق مختلفة من الحفرة الفموية درست نسيجياً وتمّ تلوينها مناعياً بكاشف الكولاجين IV . **النتائج:** لحسن الحظ أظهرت دراستنا أنّ معظم السرطانات البشروية شائكة الخلايا كانت جيدة التمايز، فيما يخص دراسة الغشاء القاعدي حول الجزر الورمية وهي النقطة الجوهرية التي ركزنا عليها في بحثنا؛ فلدى دراسة درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي المحيط بالجزر الورمية لحالات السرطان البشروي شائك الخلايا تبين لنا أنّ الغشاء القاعدي كان إيجابياً بنسبة مئوية قدرها 76% مما يوحي بإنذار أفضل . ولدى دراسة النسبة المئوية لدرجة إيجابية الغشاء القاعدي حول الجزر الورمية نجد أنّ نسبة قدرها 40% من الحالات كانت فيها الإيجابية للكولاجين IV بين 40–60% ، وبمعنى آخر إنّ الغشاء القاعدي أصبح متقطعاً (أو على الأقل تغير تركيب الكولاجين IV حول الجزر الورمية) .

المناقشة: كلّما زادت درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي كانت القدرة على الغزو والاستعمار أضعف الأمر الذي يرفع معدل البقاء على قيد الحياة . وبالتالي من الممكن التنبؤ بإنذار الحالة من خلال تحري درجة التعبير عن الكولاجينIV حول الجزر الورمية في السرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفموية .

الكلمات المفتاحية: السرطان البشروي شائك الخلايا، الغشاء القاعدي، الكولاجين IV

*مدرس– قسم النسج والتشريح المرضي– كلية طب الأسنان– جامعة دمشق– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (33) العدد (3) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (33) No. (3) 2011

The Expression of the Collagen IV in the Basement Membrane around the Nests of Tumor Cells in Oral Squamous Cell Carcinoma

Dr. sharif Barakat*

(Received 19 / 9 / 2010. Accepted 22 / 5 / 2011)

□ ABSTRACT □

BACKGROUND: The speed of the spread of squamous cell carcinoma (SCC) depends on the speed of the degradation or discontinuity of the basement membrane. The degradation of the basement membrane is considered the stage of the cancer cell invasion and metastasis, which has a large impact on the prognosis. This study aims to study the expression of collagen IV in the basement membrane around the nests of tumor cells in oral squamous cell carcinoma.

METHODS: 25 cases of oral squamous cell carcinoma are taken from different areas of the oral cavity, we approach histological and ummunohistochemical study with antibody of the collagen IV.

RESULTS: fortunately, the research showed that most of the SCC were well-differentiated. As for the study of the basement membrane around the nests of tumor cells, which is the essence of the research: when we study collagen IV degree of expression in the basement membrane surrounding the nests of tumor cells in SCC, we found out that the basement membrane was 76% positive, which reveals a better prognosis.

When studying the percentage of the positivity of the basement membrane around the nests of tumor cells, we found out that in 40% of the case, the positivity of the collagen IV was between 40- 60%.

In other words, the basement membrane became discontinuous (or at least the structure of the collagen IV in the nests of tumor cell has changed). The more the degree of expression of collagen IV in the basement membrane, the less capability of invasion or metastasis is, which increases the rates of survival.

CONCLUSIONS: It is possible to predict the prognosis via exploring the degree of the expression of the collagen IV around the nests of tumor cells in SCC in the oral cavity.

Keywords: Squamous Cell Carcinoma, Basement Membrane, Collagen IV.

* **Assistant Professor, Department of Oral Pathology, Faculty of Dentistry, University of Damascus, Damascus, Syria.**

مقدمة:

يشكل السرطان البشروي شائك الخلايا squamous cell carcinoma الذي ينشأ على حساب البشرة المخاطية الفموية2−3% من كامل الخباثات الموجودة في [1،2،3].

إنّ أهم العوامل المؤهبة لحدوث السرطان هي التبغ بأشكاله المتنوعة tobaco [4،5،6]، وتعاطي المشروبات الكحولية [3،7،8، 9] ، والتعويضات السنية السيئة، والتعرض للأشعة السينية، والحروق الواسعة والإنتان بالحُمة الراشحة OSCC HIV [5] ، وكذلك استعمال مثبطات المناعة التالي لزرع الأعضاء [10،11] .

يتميز السرطان نسيجياً بعلائم اللانموذجية الخلوية Cellular atypia [4،6] .

تعتمد سرعة انتشار السرطان البشروي شائك الخلايا على مدى سرعة تخرب degradation أو عدم استمرارية Discontinuity الغشاء القاعدي [12] ويعتبر تخرب الغشاء القاعدي المرحلة الأولى من غزو الخلايا السرطانية cancer cell invasion واجتياحها للأنسجة المجاورة metastasis [13، 14 ، 15].

الغشاء القاعدي:

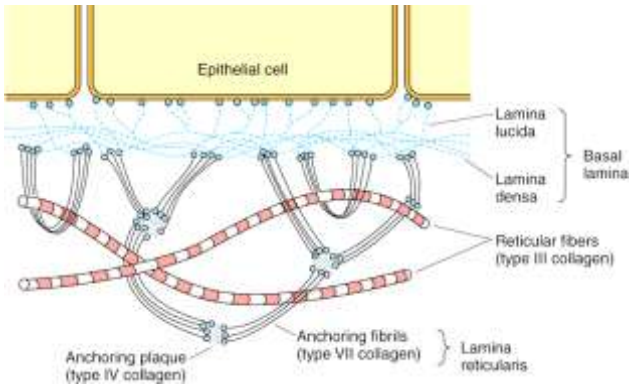
هو منطقة ضيقة خالية من الخلايا يوجد في المسافة ما بين النسيج الظهاري والنسيج الضام [16، 17،18] يتركب من مواد القالب العضوي خارج الخلوي extracellular matrix والتي تتركب بشكل أساسي من الكولاجين collagens والبروتينات السكرية glycoproteins والبروتيوغليكان proteoglycans .و قد اشتق الاسم من كونه يتوضع تحت الخلايا القاعدية للبشرة [16، 17].

يؤمن الغشاء القاعدي دعم و ربط البشرة مع النسيج الضام المجاور لها، و له دور في التحكم بنمو البشرة وتمايزها ويشكل حاجزاً لفترة معينة أمام غزو الخلايا البشروية السرطانية للنسيج الضام المجاور .

لا تحتوي البشرة على أوعية دموية، والغشاء القاعدي هو الذي يسمح بنفوذ انتقائي منظم للأغذية ونواتج الاستقلاب والجزيئات الأخرى من وإلى البشرة [16] .

من أهم المكونات الأساسية للغشاء القاعدي: الكولاجين وخاصةً الكولاجين IV ، واللامنين والبروتينات السكرية الرابطة، ولدى دراسة الغشاء القاعدي بالمجهر الالكتروني electron microscopy يبدو أنّه مؤلف من منطقتين:

1. الصفيحة القاعدية the basal lamina : تكون ملتصقة بشدة مع الخلايا البشروية Epithelial cells ومؤلفة من طبقتين :



- الصفيحة الشفافة the lamina lucida بسماكة 50 نانومتر، تكون على تماس مباشر مع الخلايا البشروية وتتكون بشكل رئيسي من اللامينين laminin والبروتينات سكرية glycoproteins والأنتيكتين entactin والأنترجين integrins و dystroglycans وهناك مستقبلات للامينين موجودة على االغشاء الخلوي تتداخل مع اللامينين الموجود في هذه المنطقة.
- الصفيحة الكثيفة the lamina densa بسماكة 50 نانومتر أيضاً وهي مؤلفة من شبكة من الكولاجين IV of type collagen IV وهي تربط بين الصفيحة الشفافة من جهة البشرة والصفيحة الشباكية من جهة النسيج الضام

من خلال البروتينات السكرية proteoglycan perlacan والهيبارين سلفات heparan sulfate وبعض الشوارد سلبية الشحنة polyanion [18] كالكلور[19] والكبريتات sulfate ion [19، 20] . تلعب هذه الشحنات الكهربائية السالبة strong negative electrical charge المرتبطة مع البروتيوغليكان في الغشاء القاعدي دوراً في المحافظة على تركيب السائل الخلالي في النسيج الضام ومنع ارتشاحه خارجاً[19] .

2. الصفيحة الشباكية **the lamina reticularis** وهي ذات ثخانات مختلفة وذلك يرجع إلى قوى الاحتكاك frictional force التي تتعرض لها البشرة المغطية لها ، وتتشكل من نشاط خلايا النسيج الضام وبشكل خاص الخلية المصورة لليف fibroblasts كما أنها تكون على تماس مباشر مع النسيج الضام و تحتوي على الفيبرونكتين **fibronectin** والكولاجين نمط I و III collagen [18] .

تتركب ألياف الكولاجين collagen من وحدات التروبوكولاجين ، والذي يتألف من 3 سلاسل من عديدات الببتيد تسمى سلاسل α التي تكون ملتفة حول بعضها البعض في شكل حلزوني. كل سلسلة α مؤلفة من حوالي 1000 حمض أميني [16]. إنّ كل حمض أميني ثالث هو الغليسين وتكون أغلب الحموض الأمينية الباقية مركبة من البرولين، الهيدروكسي برولين والهيدروكسي ليسين. من المعتقد أن الغليسين يسمح بالتجمع المتقارب لسلاسل α الثلاثة وذلك بسبب صغر حجمه. روابط الهدروجين في الهيدروكسي برولين تربط السلاسل الثلاث مع بعضها، والهيدروكسي ليسين يسمح بتشكيل الليفات من خلال ربط جزيئات الكولاجين مع بعضها[16].

حتى الآن تم التعرف على الأقل على 29 نوع من الكولاجين[21، 22] . و ذلك بالاعتماد على تتالي الحموض الأمينية في سلاسل α الخاصة بها. كل سلسلة يتم تشفيرها بواسطة حمض ريبي نووي رسول مختلف (mRNA)، تتوضع أنماط الكولاجين في أماكن مختلفة من الجسم بحيث يتناسب كل نوع مع الوظيفة الموكلة إليه [16، 17].

الكولاجين IV:

لايُظهر التخطيطات العرضية التي يفصل بينها مسافة 67 نانومتر. وهو يشكل شبكة من جزيئات التربوكولاجين لتشكل القالب الملائم للصفيحة القاعدية Basal lamina والتي تقدم الدعم و التصفية الانتقائية [17]. .

إنّ الكولاجينIV هو من أهم العناصر التي تدخل في تركيب الغشاء القاعدي: وهو يتركب من من 6 سلاسل ألفا (بدءً من ألفا 1 كولاجين IV وحتى ألفا 6 كولاجين IV) [13] . وتذكر العديد من المقالات الطبية بشكل خاص ضياع السلسلة ألفا 5 كولاجين IV و ألفا 6 كولاجين IV في المراحل الأولى من الاجتياح حتى في الغشاء القاعدي المحيط بالأعشاش الخلوية بعد غزو النسيج الضام المجاور [13 ، 23] .

إنّ العديد من الخمائر البروتينية Proteases والخمائر الحالة للبروتين Proteolytic enzymes والكاتبسين cathepsin بنوعيه B و D ل تسهل من مرور الخلايا السرطانية واستعمارها للأنسجة المجاورة [24،25] .

تفرز الخلايا السرطانية أنزيمات حالة، أو تحرض خلايا المضيف على إنتاج خمائر حالة للبروتينات بما فيها الجيلاتيناز، الكولاجيناز[26] فالكولاجيناز IV هو حال جيلاتيني للكولاجين IV ، ويتكون من الجيلاتيناز A (gelatinase A) والجيلاتيناز B (gelatinase B) [27] كما يعتبر الميتيل ميتالوبروتيناز 2 و 9 Matrix metalloproteinases (MMPs)-2 and -9 حال أيضاً للكولاجين IV الموجود في الغشاء القاعدي [28 ، 29] مما يفسح المجال أمام الخلايا السرطانية بالولوج عمقاً ضمن النسيج الضام ومن ثمّ استعمار الأنسجة والأعضاء المجاورة [26].

أهمية البحث وأهدافه:

تحري درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي في السرطان البشروي شائك الخلايا في الحفرة الفمويه.

ذلك أنّه لن تستطيع الخلايا السرطانية الإنتشار إلى المناطق الأبعد إلا بعد حدوث تخرب في بنية الغشاء القاعدي [12 13، 14 ، 15] .

طرائق البحث ومواده:

فورمول 10% – كحول – كزيلول – شمع البارافين – ملونا الهيماتوكسيلين والإيوزين — الماء المقطر —— سائل تريس – الكيت المناعي LASB الخاص لشركة DAKO – مستضدات الكولاجين IV – جهاز قياس الحموضة PH – المبشرة النسيجية microtome – مجهر ضوئي .

بلغ عدد عينات السرطان البشروي شائك الخلايا التي دخلت في دراستنا 25 حالة مأخوذه من إصابات الحفرة الفموية. اختيرت العينة عشوائياً من الآفات السرطانية الناشئة على حساب الحفرة الفموية الواردة إلى قسم النسج والتشريح المرضي كلية طب الأسنان بجامعة دمشق بين عامي 2006 و 2010 بهدف إجراء التحليل النسيجي لها . تمّ إجراء الدراسة النسيجية والمناعية في مخبر قسم النسج والتشريح المرضي بكلية طب الأسنان بجامعة دمشق. توزعت العينة المدروسة وفق الجدول رقم (1)

الجدول رقم (1) توزع عينات الدراسة حسب المنطقة المصابة من الحفرة الفموية والجنس والعمر

السرطان البشروي شائك الخلايا (25 حالة)																			
الجزء العلوي من الحفرة الفموية (10 حالة)								الجزء السفلي من الحفرة الفموية (15 حالة)											
الشفة		اللثة		قبة الحنك		دهليز الفم		الخد		الشفة		اللثة		دهليز الفم		السطح السفلي للسان		قاع الفم	
♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
2	0	1	1	1	1	0	1	2	1	3	2	1	0	2	1	1	2	1	2

توزعت الفئات العمريه لهؤلاء المرضى وفق الجدول رقم (2) :

الجدول رقم (2) توزع عينات الدراسة حسب الفئات العمرية

	أقل من 30 سنة	30 – 40 سنة	41 – 50 سنة	51 – 60 سنة	أكبر من 60 سنة
الذكور	0	1	4	6	5
الإناث	0	1	2	4	2

بالإضافة إلى أربع عينات شاهده مأخوذ من اللثة اثنتان من الناحية الحنكية للفك العلوي واثنتان من الناحية الدهليزية للفك السفلي (أخذت بهدف تطويل التاج السريري لعدد من الأسنان لوضع تاج خزفي بطول مناسب) .

لإجراء الدراسة النسيجية ثبتت العينات بالفورمول الممدد 10% مدة 24 ساعة ثمّ ادمج شمع البارافين لنتمكن من قطع العينات بالمبشرة النسيجية Microtome والذي بحركة آلية يعطينا شرائح رقيقة ذات سماكة 5 ميكرون .

فرشت المقاطع النسيجية على لامات زجاجية عادية بهدف التلوين بملون الهيماتوكسبن والإيوزين ، ولامات خاصة مهيأة للملونات الكيميائية النسيجية المناعية

ثمّ تمّ نزع البارافين من هذه الشرائح لتصبح العينات جاهزة للتلوين بملوني الهيماتوكسيلين والإيوزين HE ، والتلوين المناعي كاشف مستضد الكولاجين IV لشركة DAKO . وقد اعتمدنا في تلوين المحضرات بمستضد الكولاجين IV على تعليمات الشركة الصانعة للأضداد المناعية DAKO. وقد اعتمدنا في دراسة التماس بين الخلايا البشرويه على المجهر الضوئي تكبير 60X10 فيما هل كانت الخلايا البشرويه في الجزر الورميه متلامسة تماماً ، أو كان بينها مسافة واضحه يملؤها مواد خلاليه أو نسيج ضام .

النتائج والمناقشة:

النتائج :

بلغ عدد حالات الفك العلوي 40% بينما كانت حالات الفك السفلي 60%.

نسبة إصابة الذكور 64% بينما كانت نسبة إصابة الإناث 36%

68% من الإصابات كان بعمر فوق 50 سنة .

دراسة العلاقة النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي لإيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية مع درجة خباثة هذه الجزر الورمية :

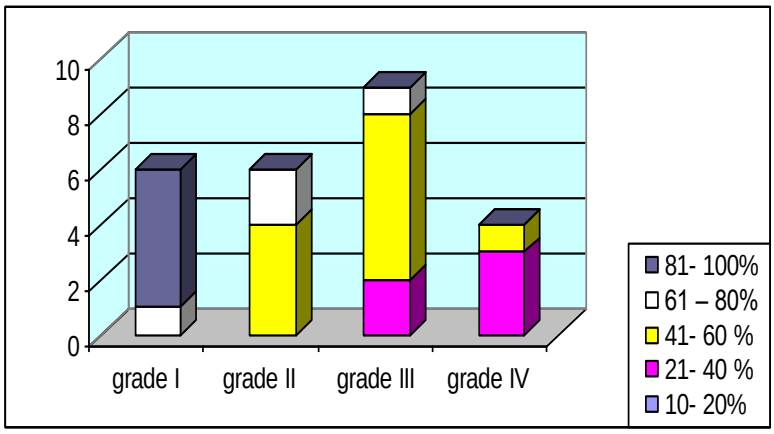
تمّ اعتماد الجزر الورمية في الأكثر خبثاً في كل حالة

أظهر بين 41–60% من محيط هذا الجزر الورمية إيجابية لكاشف الكولاجين IV **في** 44% من الحالات المدروسة . ونلاحظ أنّه عندما يكون شكل الخلايا البشروية حرشفياً كأقرب ما يكون من شكل الخلايا الطبيعية تكون نسبة الإيجابية للكولاجين IV أكبر من 81% من محيط الجزر الورمية والجدول رقم (3) يوضح النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي لإيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية مع شكل الخلايا البشروية في هذه الجزر الورمية

الجدول رقم (3) النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي لإيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية مع درجة خباثة الجزر الورمية في الساحة الأكثر خباثة

الإيجابية	10– 20%	21– 40 %	41– 60 %	61 – 80%	81– 100%	المجموع
درجة أولى	0	0	0	1	5	6
درجة ثانية	0	0	4	2	0	6
درجة ثالثة	0	2	6	1	0	9
درجة رابعة	0	3	1	0	0	4
المجموع	0	5	11	4	5	25

وبتطبيق نظرية اختبار استقلال الفرضيات لكاي مربع بمستوى دلالة (0.05) أي بدرجة ثقة قدرها 95% ودرجة حرية قدرها (12) كانت قيمة كاي مربع المحسوبة (27.127) أكبر من قيمة كاي مربع النظرية (21.026) وبالتالي فإنّ نظرية الاستقلال غير صحيحة وبالتالي هناك ارتباط نسبة الإيجابية للكولاجين IV في الغشاء القاعدي مع الخباثة، والمخطط رقم (1) يوضح هذه العلاقة :



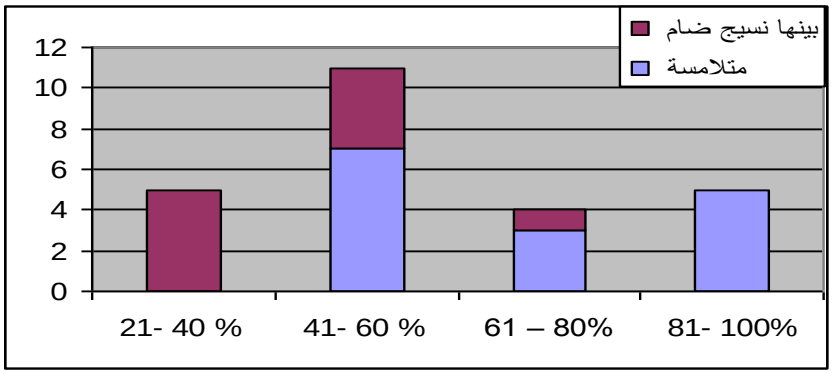
المخطط رقم (1) يوضح العلاقة بين النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي لإيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية مع درجة خباثة هذه الجزر الورمية

دراسة مدى التوافق بين النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي إيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية مع درجة ارتباط الخلايا الورميه في هذه الجزر الورمية مع بعضها :

بتطبيق نظرية اختبار استقلال الفرضيات لكاي مربع بمستوى دلالة (0.05) أي بدرجة ثقة قدرها 95% ، ودرجة حرية قدرها (3) كانت قيمة كاي مربع المحسوبة (9.87) أكبر من قيمة كاي مربع النظرية(7.815) وبالتالي فإنّ نظرية الاستقلال خاطئة وهناك توافق بين النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي إيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية مع درجة ارتباط الخلايا الورميه في الجزر الورمية مع بعضها البعض . الجدول رقم (4)، والمخطط رقم (2) وكذلك الأشكال النسيجية رقم (1، 2، 3، 4) توضح هذا التوافق (العلاقة غير المباشرة).

الجدول رقم (4) النسبة المئوية لدرجة إيجابية الغشاء القاعدي حول الجزر لورمية لمستضد الكولاجينIV

نسبة الإيجابية	10- 20%	21- 40 %	41- 60 %	61 – 80%	81- 100%	المجموع
الخلايا النشروية متلامسة	0	0	7	3	5	15
بينها نسيج ضام	0	5	4	1	0	10
المجموع	0	5	11	4	5	25



المخطط رقم (2) يوضح بين النسبة المئوية لمساحة للغشاء القاعدي الذي يبدي إيجابية للكولاجين IV حول الجزر الورمية و درجة ارتباط لخلايا الورميه في هذه الجزر الورمية مع بعضها البعض

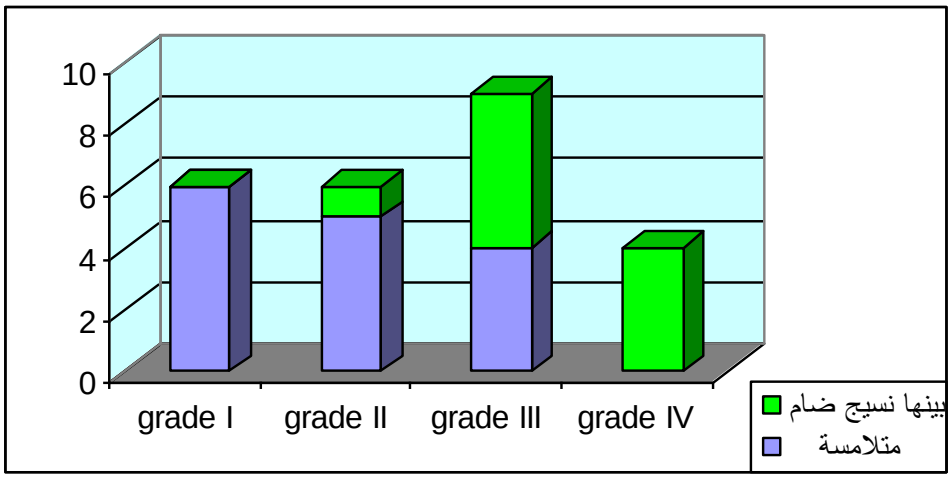
دراسة درجة خباثة الجزر الورمية مع درجة ارتباط الخلايا مع بعضها (في الساحة الأكثر خباثة):

أبدت الخلايا البشروية السرطانية في الجزر الورمية ميلاً للتخلي عن روابطها مع مع الخلايا المجاوره في 40% من الحالات وقد توزعت هذه الحالات حسب درجة الخباثة وفقاً للجدول رقم (5):

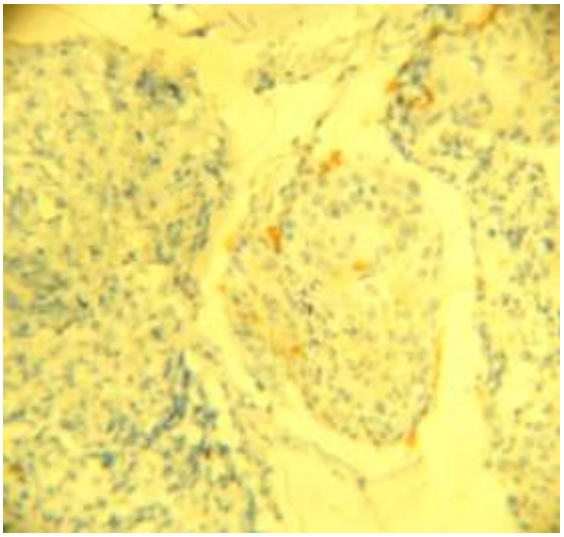
الجدول رقم (5) لدراسة علاقة درجة قرب الخلايا البشروية من شكلها الأصلي (الحرشفي) ودرجة قرب هذه الخلايا من بعضها البعض في الجزر الورمية .

الخلايا البشروية	درجة أولى	درجة ثانية	درجة ثالثة	درجة رابعة	المجموع
متلامسة	6	5	4	0	15
بينها نسيج ضام	0	1	5	4	10
المجموع	6	6	9	4	25

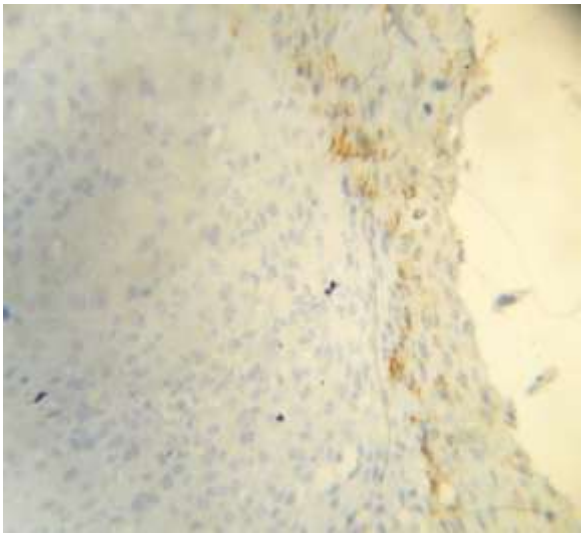
بتطبيق نظرية اختبار استقلال الفرضيات لكاي مربع بمستوى دلالة (0.05) أي بدرجة ثقة قدرها 95% ودرجة حرية قدرها (3) كانت قيمة كاي مربع المحسوبة (12.298) أكبر من قيمة كاي مربع النظرية (7.815) وبالتالي فإنّ نظرية الاستقلال غير صحيحة وهناك علاقة بين درجة الخباثة ودرجة قرب الخلايا البشروية من بعضها البعض في الجزر الورمية . والمخطط البياني رقم (3) يظهر هذه العلاقة .



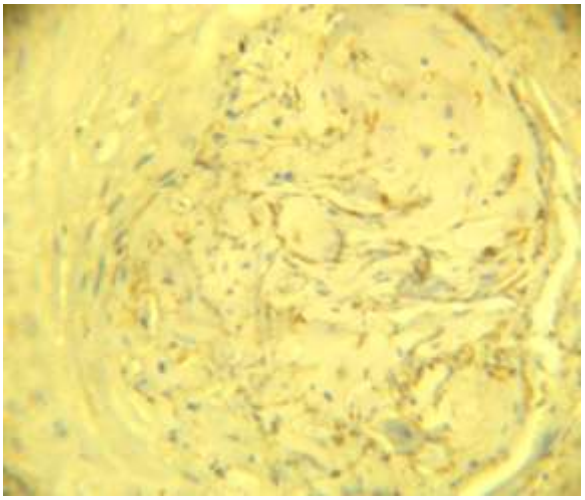
المخطط رقم (3) العلاقة بين درجة الخبث ووجود النسيج الضام بين الخلايا السرطانية في الجزر الورمية



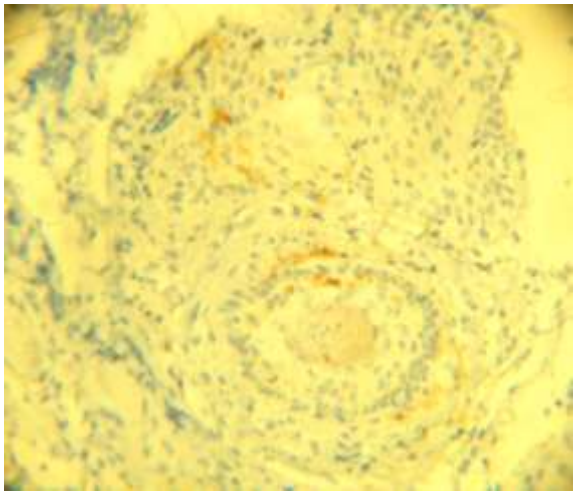
الشكل رقم (1) صورة نسيجية للسرطان البشروي شائك الخلايا مأخوذ من دهليز الفم توضح الإيجابية ++ بين 40-60% للغشاء القاعدي للكولاجين IV حول أحد الجزر الورمية



الشكل رقم (2) صور نسيجية لسرطان بشروي شائك الخلايا من قاع الفم يظهر وجود إيجابية ++ للكولاجين IV بمساحة بين 60 – 80 % للغشاء القاعدي الموجود تحت الخلايا البشروية للورم



الشكل رقم (3) صورة نسيجية لسرطان بشروي شائك الخلايا مأخوذ من السطح السفلي للسان توضح الإيجابية ++ بين 21-40 للكولاجين IV حول الجزر الورمية الصغيرة



الشكل رقم (4) صور نسيجية لسرطان بشروي شائك الخلايا من قاع الفم يظهر وجود إيجابية ++ للكولاجين IV بمساحة بين 21 – 40 % من الغشاء القاعدي حول الجزيرة الورمية

المناقشة:

لم يعد تشخيص السرطان يشكل تلك المشكلةً العلمية وذلك حتى على المستوى المناعي أو المورثي ، وباعتبار أنّ حياة المريض هي الهدف السامي للأبحاث الطبية فإنّ آلية انتشار وسرعة انتشار السرطان هي العامل الأهم لما لها من أثر بالغ على الغزو والاجتياح وبالتالي سوء الإنذار. وفي هذا المجال كان اتجاه بحثنا .

تركزت معظم الإصابات في بحثنا في النصف السفلي من الحفرة الفموية (60% من الحالات) ، وهذا منسجم مع العديد من العلماء مثل Haya Fernandez &al [30] و Regize JA, [6] الذين وجدوا أنّ سرطان اللسان ثمّ

سرطان قاع الفم يشكلان بين 40–60% من السرطانات شائكة الخلايا التي تصيب الحفرة الفموية إذا استثنينا سرطان الشفة السفلية الذي يشكل الموقع الأول للإصابة ، كما كانت نسبة إصابة الذكور 64% أكبر من نسبة إصابة الإناث 36% وهذا أيضاً منسجم مع الكثير من الدراسات مثل Regize JA [6] و Zavras AI [31] علماً أنّ إصابة النساء في تزايد مستمر بسبب انتشار عادة التدخين بينهن . إنّ مرسوم منع التدخين في الأماكن العامة في الجمهورية العربية السورية يشكل مكسباً صحياً كبيراً للمواطنين في هذا البلد .

تتحدد درجة خبث الورم بناءً على نوع وكمية علائم سوء التصنع التي تبديها الخلايا وهي تعدد الأشكال الخلوية pleomorphism ، واضطراب النسبة بين النواة والسيتوبلاسما nuclear-cytoplasmic ratio ، ووجود الانقسامات الشاذة abnormal mitotic figures ، ونقص أو زيادة الاصطباغ ، ويلعب كل من درجة قرب الخلايا شكلياً من الخلايا الطبيعية ووجود المنتج الطبيعي لهذه الخلايا وهي بالنسبة للخلايا البشروية القرنين دوراً هاماً في تحديد درجة خبث الورم . فالورم الذي تعاني خلاياه من تعدد أشكال واسع وكمية أقل من القرنين مع صعوبة تحديد منشأ الخلايا النسيجي ، وذلك لابتعاد شكل الخلايا كثيراً عن شكلها الطبيعي ، يكون ذا درجة رابعة ويتميز بسرعة الانتشار والاستعمار [32] ومثل هذا السرطان البشروي يطلق عليه اسم السرطان ذو الخلايا المغزلية spindle cell carcinoma [33 ،34، 35 ، 36] . يعتقد العديد من العلماء حدوث تحول الخلايا البشروية في هذه الدرجة باتجاه ضام epithelial mesenchymal transition [33 ،34، 35 ، 36] حيث يحدث في هذا الورم تحلل وضياع كبير للجزيئات الرابطة بين الخلايا البشروية مثل E-cadherin [33 ، 37] وL1 Cell Adhesion Molecule [34] والسنديكان syndecan-1 [38] لتصبح الخلايا البشروية بعدها محاطة بالنسيج الضام [38] . يساهم في هذا التحول عامل خاص يسمى عامل تحول النمو Transforming growth factor (TGF) ولهذا العامل دور مهم في التحكم بالكولاجيناز IV [27]. إنّ مثل هذه الملاحظات كانت دافعاً كبيراً لنا لدراسة مدى تلامس الخلايا البشروية في الجزر الورمية .

أظهرت دراستنا النسيجية أنّه كلما كانت درجة الورم أدنى والخلايا البشروية أقرب ما تكون إلى شكلها الطبيعي كانت الخلايا البشروية في الجزر الورمية أقرب إلى بعضها البعض ، وهذا يتوافق مع إنذار أفضل، حيث إنّ الغزو والاجتياح يكون أبطأ بما يسمح للتشخيص المبكر أن يعطينا إنذاراً أفضل ، ولحسن الحظ إنّ 60% من الحالات المدروسة أبدت إلى حدّ ما التلامس فيما بينها ، وهذا ينسجم مع ما ذكره Cawson RA [4] أنّ معظم أورام الحفرة الفموية جيدة التمايز .

وفيما يخص دراسة الغشاء القاعدي حول الجزر الورمية وهي النقطة الجوهرية التي ركزنا عليها في بحثنا ذلك لأنّ تخرب الغشاء القاعدي يعتبر من أهم عوامل الغزو والاجتياح فكلما كان الغشاء القاعدي مستمراً كان الغزو والاستعمار أبطأ والعكس صحيح . فلدى دراسة درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي المحيط بالجزر الورمية لحالات السرطان البشروي شائك الخلايا تبين لنا أنّ الغشاء القاعدي كان إيجابياً في جميع الحالات، ولو أنّ الإيجابية لم تكن على كامل محيط الجزر الورمية (تقطع الغشاء القاعدي). ولدى دراسة النسبة المئوية لدرجة إيجابية الغشاء القاعدي حول الجزر الورمية نجد أنّ 11 حالة أي بنسبة مئوية قدرها 60% كانت فيها الإيجابية للكولاجين IV بين 41–80% من محيط الجزر الورمية، وبمعنى آخر إنّ الغشاء القاعدي أصبح متقطعاً (أو على الأقل تغير تركيب الكولاجين IV حول الجزر الورمية بدليل غياب التعبير عن الكولاجين IV) أي إنّ غياب الكولاجين IV كان بين 20–60% في 60% من محيط الجزر الورمية.

المقارنة مع الدراسات السابقة :

إنّ ما توصلنا إليه قريب من دراسة Lina H &al [39] الذين جدوا أنّ درجة التعبير عن الكولاجين IV في السرطان البشروي شائك الخلايا كان بنسبة 56% [39] .

إنّ تأذي الغشاء القاعدي في سياق الإصابة بالسرطان البشروي شائك الخلايا لا ينحصر فقط في الكولاجينIV بل يتعداه إلى حدوث أذية في باقي المكونات، حيث إنّ درجة التعبير عن اللامينين في سياق نفس الإصابة كان 40% حسب دراسة Lina H &al [39] وبمعنى آخر إنّ 60% من اللامينين الذي يدخل في تركيب الغشاء القاعدي كان متخرباً (أو على الأقل متأذياً). أمّا الفيبرونكتين حسب نفس الدراسة فكانت درجة التعبير عنه 36% [39] وبالتالي فإنّ تأذي الفيبرونكتين الذي يدخل في تركيب الغشاء القاعدي في سياق الإصابة بالسرطان البشروي شائك الخلايا كان بنسبة 64%. وقد وجدArduino PG &al [12] و Lin H &al [39] نقص التعبير عن كل من اللامينين والكولاجين IV والفيبرونكتين (وهي من أهم البنى التي تدخل في تركيب الغشاء القاعدي) في السرطان البشروي شائك الخلايا بالمقارنه مع العينات الشاهده وحتى مع الحالات التي تبدي وجود سوء تصنع بشروي شديد [12 ، 39]. كما وجد العديد من العلماء أنّ اختفاء سلاسل ألفا للكولاجين IV المكونه للغشاء القاعدي كان أكثر حدةً في السرطانات قليلة التمايز بالمقارنه مع السرطانات عالية التمايز [13، 15، 23، 40] . وهذا منسجم مع ما وجدناه بالتحاليل الإحصائية (وفقاً للجدول رقم (3) أنّه كلما كان محيط الجزر الورمية تبدي إيجابية أكبر لمستضد الكولاجين IV كانت درجة السرطان أدنى بما يتوافق مع درجة خبث نسيجي أقل ، وهذا يترافق مع سطح تلامس أكبر بين الخلايا البشروية المتجاوره في الجزر الورمية وذلك وفقاً لما وجدناه بدراستنا الإحصائية (وفقاً للجدول رقم (4) ، وهذا منسجم مع ما ذكره العالم Sakaki T &al [41] أن الخلايا السرطانية تتميز بقدرتها على إنقاص الالتصاق الخلوي الخلوي وزيادة المكونات الحساسة المسؤولة عن الهجرة الخلوية مثل الكيناز اللاصق الموضعيFAK ، والكادهيرين اللاصقُ E- Cadherin ، والكادهيرين الرابط Desmosomal Cadherin ، و desmoglein2 وهذا يرتبط مع زيادة معدل الهجرة الخلوية وزيادة سوء الإنذار[41] وخاصةً إذا ترافق مع أذية أكبر للغشاء القاعدي وخاصةً تركيب الكولاجين IV واللامينين والفيبرونكتين، وهذا منسجم مع ما وجدناه أنّه كلما كانت الخلايا البشروية في الجزر الورمية متماسة أو قريبة كانت مساحة الغشاء القاعدي الذي يبدي إيجابية للكولاجين IV حول هذه الجزر الورمية أكبر.

الاستنتاجات والتوصيات :

كلّما زادت درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي كانت القدرة على الغزو والاستعمار أضعف الأمر الذي يرفع معدل البقاء على قيد الحياة .

الأمر الذي يجعل من تقييم درجة التعبير عن الكولاجين IV في الغشاء القاعدي المحيط بالجزر الورمية في السرطان البشروي شائك الخلايا مشعراً جيداً لتحديد درجة خبث الورم وتحديد الإنذار ومعدل البقيا على قيد الحياة .

المراجع:

1 – SCIUBBA,J.J. *Oral precancer and cancer: etiology, clinical presentation, diagnosis, and management*. Compend Contin Educ Dent, Maryland, USA, 2000, Oct, 21,(10A):892-8, 900-2 .

2 – SCULLY, C.; BEDI, R. *Ethnicity and oral cancer* . Lancet Oncol, London, UK, 2000, Sep,1, 37-42 .

3 – WEINBERG, M.A.; ESTEFAN, D.J . *Assessing oral malignancies* . Am Fam Physician, New York ,USA, 2002 Apr 1,65(7),1379-84 .

4 – CAWSON, R.A.; BINNIE, W.H.; SPEIGHT, P.M. *Lucas's Pathology Of Tumors Of The Oral Tissues*. Fifth Edition, Michigan, USA, 1998, Churchill Livingstone.

5 – SCHILDT, E.B.; NYLANDER, K.; ERIKSSON,M .; HARDELL,L.; MAGNUSSON, A؛ ROSS, G., *Expression of p53, PCNA, Ki-67 and bcl-2 in relation to risk factors in oral cancer - a molecular epidemiological study* .Int J Oncol, Lund, Sweden ,2003Apr, 22(4),861-8.

6- REGEZI, J.A.; SCIUBBA, J. *Oral Pathology Clinical- Pathologic connelations*. Third edition, New York, USA, 1997, W.B.saunders.

7 – PAPADIMITRAKOPOULOU,V.A . *Chemoprevention of head and neck cancer*. Curr Opin Oncol, Texas, USA, 2002 May,14(3),318-22 .

8 – STURGIS, E.M.; WEI,Q. *Genetic susceptibility-molecular epidemiology of head and neck* .Curr cancer , Opin Oncol, Houston, Texas, USA, 2002 May,14(3),310-7.

9 – LIN, S.C.; CHEN, Y.J.; KAO, S.Y.; HSU, M.T.; LIN, C.H.; YANG, S.C.; LIU ,T.Y.; CHANG, K.W . *Chromosomal changes in betel-associated oral squamous cell carcinomas and their relationship to clinical parameters*. Oral Oncol , Taiwan ,2002 Apr,38(3),266-73.

10 – HERNANDEZ,G.; ARRIBA, L.; JIMENEZ, C.; BAGAN,J.V.; RIVERA, B.; LUCAS, M.; MORENO,E. *Rapid progression from oral leukoplakia to carcinoma in an immunosuppressed liver transplant recipient*. Oral Oncol, Madrid, Spain , 2003 Jan,39(1),87-90.

11 - PRECIADO, D.A؛ MATAS A؛ ADAMS, G.L. *Squamous cell carcinoma of the head and neck in solid organ transplant recipients* . J. Head Neck, Minnesota, USA, 2002 Apr,24(4),319-25 .

12- ARDUINO, P.G.; CARROZZO, M.; PAGANO, M.; BROCCOLETTI, R.; SCULLY, C.; GANDOLFO, S. *Immunohistochemical expression of basement membrane proteins of verrucous carcinoma of the oral mucosa.* Clin Oral Investig, Turin, Italy ,2009 Jun 9.

13- BABA, Y.; IYAMA, K.; IKEDA, K.; ISHIKAWA,S.; HAYASHI, N.; MIYANARI, N.; SADO, Y.; NINOMIYA, Y.; BABA, H. *The expression of type IV collagen alpha6 chain is related to the prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma*. Ann Surg Oncol, Kumamoto , Japan ,2008 ,Feb,15(2),555-65.

14- LIU, S.Y.; CHANG, L.C.; PAN, L.F.; HUNG, Y.J.; LEE,C.H, SHIEH, Y.S. *Clinicopathologic significance of tumor cell-lined vessel and microenvironment in oral squamous cell carcinoma*. Oral Oncol, Tainan, Taiwan , 2008, Mar,44(3):277-85. Epub, ,2007 May 1.

15- QUATRESOOZ, P.; LETOT, B.; PIERARD, G.E. *Squamous cell carcinoma of the leg in an octogenarian woman* . Rev Med Liege,France, 2005, Jul-Aug,60(7-8),680-2.

16- LESLIE, P. ; GARTNER , JAMES, L . *Color textbook of histology*. Saunders Hiatt , Maryland , USA,2007,Third edition , P.P: 69-110, Chapeter 4,5

17- THOMAS, D.; POLLAR,D.; WILLIAM,C . *cell biology* . Earnshaw, Philadelphia,USA, 2004, Pennsylvania, Saunders. P.P: 471-535.

18- Gartner; Hiatt .*Basement Membrane*: section of Chapter 4, Color Textbook of Histology, 3rd ed. Philadelphia,USA, W.B. Saunders, 2007.

19- GUYTON,C .; HALL,J.E , textbook of medical physiology .eleventh edition, ELSEVIRE saunders , China , 2006 , 316-317.

20- LIDDINGTON,R.C . *Mapping out the basement membrane* . The Burnham Institute, Nature Structural Biology, USA , 2001 8, 573 - 574 .

21- SÖDERHÄLL, C.; MARENHOLZ, I.; KERSCHER, T.; RÜSCHENDORF, F.; RÜSCHENDORF, F; ESPARZA-GORDILLO , *Variants in novel epidermal collagen gene (col29Al) are associated with atopicdermattis* . PLoS Biologydoi:10.1371/journal.pbio,2007, **5** (9): e242.

22- TWARDOWSKI, T.; ORGEL, J.; SAN ANTONIO,J , *Type I collagen mimet ICS angiogenesis promoting superpolymers* . Curr Pharm Des , 2007, 13 (35): 3608–3621.

23 – TAMAMURA, R.; NAGATSUKA, H; SIAR, C.H; KATASE, N; NAITO, I; SADO, Y; NAGAI, N. *Differential expression of basement membrane collagen-IV alpha1 to alpha6 chains during oral carcinogenesis*. Virchows Arch, Okayama, , Japan, 2006 Sep,449(3),358-66. Epub 2006 Aug 16.

24 – KAWASAKI, G.; KATO, Y.; MIZUNO, A . *Cathepsin expression in oral squamous cell carcinoma: Relationship with clinicopathologic factors* . Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod , Nagasaki , Japan ,2002 Apr;93(4),446-54 .

25– MYOUNG, H.; HONG, S.P.; YUN, P.Y.; LEE, J.H.; KIM, M.J. *Anti-cancer effect of genistein in oral squamous cell carcinoma with respect* . Cancer Sci, Seoul, Korea 2003, Feb,94(2),215-20.

26 - SUPRIATNO; HARADA, K.; KAWAGUCHI, S.; YOSHIDA, H.; SATO, M. *Effect of p27Kip1 on the ability of invasion and metastasis of an oral cancer cell line*. Oncol Rep, Tokushima,japan.2003, May-Jun,10(3),527-32.

27- TAKAYAMA, S.; HATORI, M.; KURIHARA Y.; KINUGASA, Y.; SHIROTA T.; SHINTANI, S, *Inhibition of TGF-betal suppresses motility and invasiveness of oral squamous cell carcinoma cell lines via modulation of intergins and down-regulation of matrix-metalloproteinases* . Oncol Rep , Japan, , 2009 Jan;21(1):205-10.

28 – DE VICENTE, J.; FRESNO, M .; VILLALAIN, L.; VEGA, J.; HERNÁNDEZ VALLEJO, G. *Expression and clinical significance of matrix-metalloproteinases-2 and of matrix-metalloproteinases -9 in oral squamous cell carcinoma*. Oral Oncol , 2005 Mar;41(3):283-93.

29- PATEL, B.; SHAH, P.; RAWAL, M.; DESAI, A.; SHAH, S.; RAWAL, R.; PATEL,P. *Activation of MMP-2 and MMP-9 in patient with Oral squamous cell carcinoma*. J Surg Oncol, India, 2005 , 1;90(2):81-8.

30 - HAYA, F.M.C,; BAGAN,S.J.V,; BASTERRA, A.J,; LLORIA ,D.M.E . *Prevalence of oral lichen planus and oral leukoplakia in 112 patients with oral squamous cell carcinoma* .Acta Otorrinolaringol Esp, Valencia ,Spain, 2001 Apr,52(3):239-43.

31 – ZAVRAS, A.I,; LASKARIS, C,; KITTAS, C,; LASKARIS, G. *Leukoplakia and intraoral malignancies: female cases increase in Greece*. J Eur Acad Dermatol Venereol, Boston, USA ,2003, Jan,17(1):25-7.

32- NEVILLE, BW.; DAMM, D.; ALLEN, C.; BOUQUOT, J.; *Oral and Maxillofacial Pathology*. W.B Saunders , Philadelphia 2004.

33 - NGUYEN,P .; KUDO, Y.; YOSHIDA, M.; IIZUKA ,S.; OGAWA, I.; TAKATA, T , *N-cadherin expression is correlated with metastasis of spindle cell Carcinoma of head and neck region* . J Oral Pathol Med., Japan , 2010 Nov, 10.1111.

34 - HUNG, S.; WU, I.; HSUE, S.; LIAO, C.; WANG, H.; CHUANG, P.; SUNG, S.; HSIEH, C. *Targeting L1 cekll adhesion molecule using lentivirus –mediated short Hairpin RNA interference reverses aggressiveness of oral squamous cell carcinoma* . Mol Pharm. , Taiwan, 2010 Nov 15.

35- IWAI, S.; YONEKAWA, A.; HARADA, C.; HAMADA, M.; KATAGIRI, W.; NAKAZAWA,M; YURA, Y. *Involvement of the wnt-E-catenin pathway in invasion and migration of oral squamous cell carcinoma cells* . Int J Oncol, Osaka , Japan, 2010, Nov;37(5):1095-103.

36- RICHTER, P.; UMBREIT, C.; FRANZ, M.; BERNDT, A.; GRIMM, S.; UECKER,A.; KOSMEHL, H.; BERNDT, A. *EGF/ TGF betal Co-stimulation of oral squamous cell carcinoma cells causes an Epithelil –mesenchymal transition cell phenotype expressing laminin 332,* J Oral Pathol Med, , Jena, Germany , 2010 , Aug 31.

37- KUMAR,V.; COTRAN, R.; ROBBINS,S. *Robbins basic pathology* .Saunders Elsevier science , London , 2002, 190- 193.

38- VERED, M.; DAYAN, D.; YAHALOM, R.; DOBRIYAN, A.; BARSHACK, I.; BELLO, IO.; KANTOLA, S.; SALO, T. Cancer *– associated fibroblast and epithelial mesenchymal transition in metastatic oral tongue squamous cell carcinoma* . Int J Cancer. 2010 Sep 1;127(6):1356-62.

39- LIN, H.; NIU, Y.J.; ZHOU, Z.Y.; LIU, F.L.; WANG, H.Y. *Distribution and expression of basement membrane proteins in malignant eyelid tumors and its clinical significance.* Zhonghua Yan Ke Za Zhi. , Qingdao, China ,2003 Mar;39(3):167-71.

40 - CERNEA, C.R.; FERRAZ, A.R.; DE CASTRO, I.V.; SOTTO, M.N.; LOGULLO, A.F.; POTENZA, A.S.; BACCHI, C.E . *Evaluation of basement membrane status in aggressive skin carcinomas with skull base invasion: a case-control study.* Ann Diagn Pathol, São Paulo, Brazil, 2005, Jun,9(3):130-3.

41 - SAKAKI, T.; TAMURA. I, KADOTA, H.; KAKUDO,K. *Changing expression of E- and P-cadherin during rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide*. J Oral Pathol Med, Osaka, Japan ,2003 Oct;32(9),530-7.