

تحري تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني في سرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث عند الهامستر في سياق المعالجة الشعاعية

رهام الصفدي¹، أ.د. أحمد المنديلي²

¹ طالب دكتوراه في قسم النسيج والتشريح المرضي بكلية طب الأسنان - جامعة دمشق

E-mail: reham92.safadi@damascusuniversity.edu.sy

² أستاذ في قسم النسيج والتشريح المرضي بكلية طب الأسنان - جامعة دمشق

المخلص:

خلفية البحث وهدفه: إن تشكل الأوعية الدموية من خلال عملية التنشؤ الوعائي يدعم نمو العديد من أنواع السرطانات وانتشارها ومنها سرطان شائك الخلايا الفموي وتعتبر هذه العملية بعد تقديم المعالجة الشعاعية محور هام للدراسات الحديثة وذلك لتأكيد ضرورة اللجوء إلى المعالجات المشتركة حيث إن التحكم في الأوعية يمكن أن يكون له قيمة علاجية كبيرة.

الهدف من البحث: تحري تعبيرية واسم التنشؤ الوعائي عامل النمو الوعائي البطاني في سرطان شائك الخلايا الفموي OSCC بعد استحداثه عند الهامستر ثم تطبيق المعالجة الشعاعية ومقارنته قبل وبعد المعالجة للتحقق من تأثير هذا الواسم بالمعالجة الشعاعية

مواد وطرائق البحث: تألفت العينة من 18 عينة من الهامسترات المستحدث لديهم OSCC (المجموعة الأولى) و18 عينة من الهامسترات المستحدث لديهم OSCC ثم تطبيق المعالجة الشعاعية والتضحية بهم (هامستران Gy10 - هامستران Gy20 - 14 هامستر Gy30) (المجموعة الثانية) وتم أخذ خزعات من الجيب الخدي اليمين وتثبيتهم بالفورمالين ودمجهم بشمع البارافين وتلوينهم بالهيماتوكسيلين- إيوزين تقليدياً ومناعياً بالضد وحيد النسيلة عامل النمو الوعائي البطاني.

النتائج: أظهر هذا الواسم تعبيرية إيجابية في المجموعتين ولم نجد فوارق ذات دلالة إحصائية (p=0.187) في تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني بين المجموعة الأولى والمجموعة الثانية حيث وجدنا عدة جزر في المجموعة الثانية

تاريخ القبول: 2022/3/1

تاريخ النشر: 2023/3/5



حقوق النشر: جامعة دمشق -

سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق

النشر بموجب الترخيص CC

BY-NC-SA 04

من الخلايا الورمية المقاومة للعلاج ولم تتأثر بالجرعة الشعاعية قد أظهرت تعبيرية مرتفعة لهذا الواسم.

الاستنتاجات: إن التعبيرية المرتفعة لعامل النمو الوعائي البطاني المترافقة مع الخلايا الورمية التي لم تعطي حساسية شعاعية عالية أعطت أهمية للعلاج الداعم باستخدام anti-vascular endothelial growth factor مع المعالجة الشعاعية للقضاء على كافة الخلايا المستهدفة.

كلمات مفتاحية: سرطان شائك الخلايا الفموي ، عامل النمو الوعائي البطاني، المعالجة الشعاعية.

Expression of vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma induced in Hamster that underwent radiotherapy

Reham alsafadi¹, Prof. Ahmad Almanadili²

¹ PHD student at oral pathology department of faculty of dentistry Damascus university E-mail: reham92.safadi@damascusuniversity.edu.sy

² Professor at oral pathology department of faculty of dentistry- Damascus university

Abstract:

Background & Aim: The development of blood vessels through angiogenesis supports the growth and expand of many types of cancer, including oral squamous cell carcinoma.

Angiogenesis after radiotherapy is a significant focus of recent studies to confirm the importance of combined treatments, as vascular control can have a great therapeutic value.

Aim of study: Investigating the expression of angiogenesis vascular endothelial growth factor (VEGF) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) after induced it in hamsters then applying radiotherapy and comparing it before and after therapy to verify changes of this marker through the application of radiotherapy.

Materials & methods: It consisted of 18 samples of OSCC which induced in the right buccal pouch of hamsters group1 and 18 samples of OSCC which induced in the right buccal pouch of hamsters, underwent radiotherapy and then were sacrificed (2 hamsters after 10Gy, 2 hamsters after 20Gy, 14 hamsters after 30Gy) Biopsies were taken and fixed with formalin, paraffin waxed in conventional H&E and immunostained with monoclonal anti-vascular endothelial growth factor.

Results: our findings showed positive expression to this marker in both groups a but didn't show a statistically significant difference ($p = 0.187$) in the expression of vascular endothelial growth factor between group 1 and group 2. moreover, we've found islands of tumor cells that weren't affected and resistant the radiation which also revealed a high expression of VEGF.

Conclusion: cells which showed high expression to vascular endothelial growth factor didn't give high radiosensitivity and resist therapy. Subsequently, we assure the importance of applying anti-VEGF as a supportive therapy with radiation therapy.

Keywords: Oral squamous cell carcinoma, vascular endothelial growth factor (VEGF), radiotherapy.

Accepted: 1/3/2022

Published: 5/3/2023



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة :

يعد سرطان شائك الخلايا الفموي من أكثر الأورام الخبيثة شيوعاً حول العالم، وتم تشخيص حديثاً أعداد متزايدة له (Siegel et al., 2019) (P:4). و ينشأ هذا السرطان على حساب المخاطية المبطنة للحفرة الفموية، اللسان، البلعوم و الحنجرة كما يعرف بتشكيله للنقائل والاستعمارات أكثر من السرطانات الأخرى (Leemans et al., 2011) (P:5). يرتبط علاج oral squamous cell carcinoma OSCC ارتباطاً وثيقاً بعوامل مختلفة مثل درجة السرطان، الحالة الصحية العامة للمريض، وموقع السرطان شائك الخلايا الفموي. حيث تشمل طرائق العلاج في مراحله المبكرة خط واحد عن طريق العلاج الإشعاعي (RT) radiation therapy أو عن طريق الجراحة، بينما في المرحلة متقدمة من هذا السرطان تكون الجراحة مع /أو العلاج الكيميائي الإشعاعي (CRT) chemoradiotherapy هو الخط الأول للعلاج. وإضافة لذلك فإن العلاجات المناعية و العلاج الموجه قد أثبتت جدارته بشكل كبير في تحسين السيطرة على هذا الورم الخبيث (Khan et al., 2020). حيث وجدت الدراسات أن تطبيق الأجسام المضادة وحيدة النسيلة ضد مستقبل عامل نمو البشري (EGFR) epithelial growth factor receptor يعزز التأثير السام للخلايا للإشعاع (Cabrera-Rodríguez, 2016) (p:4-10). ويمكن استخدام العلاج الإشعاعي بتقنيتين، العلاج الإشعاعي الخارجي (EBRT) (External beam radiation therapy) والعلاج الإشعاعي الخليلي (BT) brachy therapy ومن الممكن دمجها معاً (Cabrera-Rodríguez, 2016) (p:11). تعتمد فعالية العلاج الإشعاعي في علاج السرطان على إحداث تلف في الحمض النووي، ويمكن أن يكون هذا الإجراء مباشراً أو من خلال التحلل الإشعاعي للماء وخلق الجذور الحرة غير المستقرة والتي تتفاعل بشكل ثانوي مع

الدنا، وخلال هذه التفاعلات يتفاعل الأوكسجين مع الجذور الحرة وقد يشكل مادة سامة (Mazeron et al., 2009) (P:3). لذلك يعد وجود نقص الأوكسجة في الأورام مصدراً مؤكداً لمقاومة العلاج الإشعاعي والعلاج الكيميائي. وفي حالة العلاج الإشعاعي من المعروف أن تأثير الأوكسجين يكمن في تثبيت تلف الحمض النووي من الإشعاع بشكل لا يمكن إصلاحه بسهولة (Dewhirst et al., 2008) (P: 4,8). تمثل 5 Rs من علم الإشعاع radiobiology مجموعة من العمليات التي تحدد استجابة الخلايا والأنسجة للإشعاع والتي تتمثل بـ (Repair DNA إصلاح الحمض النووي، Repopulation إعادة التجميع، Reoxygenation إعادة الأوكسجة، Redistribution إعادة التوزيع، Radiosensitivity الحساسية الشعاعية) ويزداد تأثيرها مع التشعب المجزأ. ويختلف تأثير 5Rs عبر الأنسجة المختلفة (Marcu et al., 2015) (p:3-10). وإن تكون الأوعية الدموية أو التنشؤ الوعائي هي العملية التي تؤدي إلى تشكيل أوعية حديثة داخل الورم من الأوعية الموجودة مسبقاً. حيث لا يمكن نمو الورم لأكثر من 1 إلى 2 من دون تولد الأوعية، فإنها تصبح ضرورية لزيادة النكاث وتتشكل النقائل (Mazeron et al., 2009) (P:5). تكون الأوعية الدموية ظاهرة معقدة تنتج التوازن بين العديد من العوامل المسببة لتولد الأوعية مثل vascular fibroblast FGF، endothelial growth factor VEGF growth factor (عامل نمو خلايا مصورات الليف) أو Platelet-derived growth factor PDGF (عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية). حيث تُفرز هذه البروتينات من الخلايا التي تستجيب لإشارات معينة مثل نقص الأوكسجة والضغط ونقص السكر في الدم، ويُعد عامل النمو الوعائي البطاني vascular endothelial growth factor

للهاستر وتشكيل السرطان بطلاء هذا الجيب بعوامل مسرطنة (P:6 Vairaktaris et al., 2008). كان تطبيق مادة 7,12 dimethylbenz- [a]-anthracene (DMBA) بشكل موضعي على الجيب الخدي للهاستر هو النموذج الأكثر تميزاً الذي تم تقديمه للسرطان الفموي ويتشكل هذا السرطان ضمن الجيب خلال 12-14 أسبوعاً

مواد البحث وطرائقه:

وصف العينة: جرت الدراسة المخبرية على 36 حيوان هامستر تم حضانهم في حواضن الصيدلة- جامعة دمشق، وتم تقسيمهم إلى مجموعتين 18 المجموعة الأولى و18 المجموعة الثانية (2 بعد gy10، 2 بعد gy 20، 14 بعد gy30)، وتم أخذ العينات النسيجية للدراسة في قسم النسيج والتشريح المرضي- طب الأسنان- جامعة دمشق، وتم تطبيق الجرعة الشعاعية للمجموعة الثانية في هيئة الطاقة الذرية- قسم الدراسات المخبرية.

تم استخدام واسم التنشؤ الوعائي rabbit monoclonal anti-vegf من شركة biosb 6234 ضد وحيد النسيلة بتركيزه الممدد حيث يكون جاهز للاستخدام الفوري وتظهر التعبيرية الإيجابية لهذا الواسم في الهيولى باللون البني.

طريقة العمل: تم استحداث السرطان لدى الهامسترات في المجموعتين بتطبيق المادة المسرطنة 7.12- dimethylbenze(a)anthracene (DMBA) بمعدل ثلاث مرات في الأسبوع عن طريق دهن بواسطة فرشاة قياس 4 في عمق الجيب الخدي اليمين لمدة أربعة عشر أسبوعاً. ثم تم التضحية بالمجموعة الأولى واستئصال الجيب الخدي اليمين. أما المجموعة الثانية تم تعريضها للمعالجة الشعاعية في هيئة الطاقة الذرية وذلك باستخدام جهاز الكوبالت 60 وهو جهاز يستخدم للدراسات التجريبية يرسل

VEGF أكثر هذه العوامل دراسة واستقصاءاً (Ferrara, P:32004) وهو جزء من دراستنا الحالية. وإن هذا العامل يحفز النمو الورمي عن طريق التأثير المباشر لمستقبلاته عبر مسار مستقل عن الخلايا البطانية واقترحت العديد من الدراسات التداخل على هذا المسار لتطوير في خطط علاج السرطان (Fan et al., P: 1 2005) ويعتبر VEGF-A من عائلة VEGFs هو المحفز الأكثر فاعلية لنمو الأوعية الدموية والمسؤول عن دعم نمو الورم (P:2 Dos Reis et al., 2021) (P:2 Subarnbhesaj and Miyauchi, 2017)،

وكما اعتبر زيادة التنشؤ الوعائي للورم عامل تنبؤي سلبي وتم إثبات ذلك في عدد من الأورام. ومن ناحية أخرى يعتبر نقص تدفق الدم للأورام مع نقص الأكسجة أحد الأسباب الرئيسية لفشل العلاج الإشعاعي. فقد تظهر التعبيرية العالية للتنشؤ الوعائي الورمي كأثار للإشعاع، وفي نفس الوقت قد يشير إلى سوء الإنذار (Shintani et al., P:6 2000).

وتعتبر النماذج الحيوانية مهمة جداً لتحديد مسببات الأمراض البشرية المختلفة في ظل بيئة خاضعة للرقابة كما يعد استخدامها جزءاً من المراحل قبل السريرية أثناء اختبار الأدوية والعلاجات الجديدة قبل تجربتها على البشر وفي حالات دراسة سرطان شائك الخلايا الفموي كانت النماذج الحيوانية مهمة أيضاً بتحديد مراحل تطور هذا الورم الخبيث ويفيد ذلك بفهم العوامل التي تدخل في عملية التسرطن، المؤشرات الحيوية والتجارب الوقائية (Martínez B et P:5 al., 2020).

ويعتبر استخدام حيوان الهامستر أفضل وسيلة لدراسة oral squamous cell carcinoma OSCC حيث تمت دراسة التسرطن carcinogenesis في الجيب الخدي

الضد الأولي (Primary Antibody) لمدة 45 د، حيث استخدم الضد عامل النمو الوعائي البطاني من شركة Bio SB. ثم تغسل 3 مرّات بالمحلول الدائري، يغطي النسيج بـ HRP لمدة 45 د، والغسل بالمحلول الدائري، ثم يُحضّر الـ chromogen ويُطبّق على النسيج 10د وتغسل السلايدات بالماء المقطّر 5مرّات، بعدها تلوّن السلايدات بالهيماتوكسيلين-إيوزين.

طريقة دراسة الشرائح النسيجية: تمت دراسة تعبيرية هذا الملون في الخلايا البشرية والخلايا البطانية للأوعية الدموية باستخدام نظام IRS تبعاً لـ (Rodrigues et al., 2018 p:7) الذي يعتمد على حساب النسبة المئوية للخلايا المتلوّنة وشدة تلوّن هذه الخلايا ثم يتم جمعهم فتدرجت النتائج بين (0-7) درجات ويتم حساب النسبة المئوية للخلايا الإيجابية عن طريق عد الخلايا التي تأخذ تلوّن بني في السيتوبلازما (الهيولى) في أربع ساحات مختلفة من كل شريحة وتم حساب النسبة المئوية للخلايا المتلوّنة في الساحة من المجموع الكلي للخلايا في الساحة النسيجية وتم تقسيم العينات إلى أربع درجات كما هو موضح في الجدول 1. وتم تقسيم شدة التلوّن أيضاً إلى 3 درجات كما هو موضح في الجدول 1.

الطرائق الاحصائية: تمّ استخدام برنامج SPSS v.19 لتحليل البيانات التي حصلنا عليها إحصائياً، كما استعنا ببرنامج (MS Excel 2010) لإنجاز الرسوم البيانية الجدول (1): يبين مقدار التعبيرية والدرجات المعتمدة للخلايا الإيجابية الآخذة للون البني وشدة التلوّن في عينة البحث والقيمة الموافقة المعطاة لكل درجة (Rodrigues et al., 2018).

القيمة الموافقة المعطاة	درجة التلوّن	درجة الخلايا الإيجابية الآخذة للون البني
0	لا يوجد تلوّن	أقل من أو يساوي 5%
1	تلوّن خفيف	أكثر من 5% وأقل من أو يساوي 25%
2	تلوّن متوسط الشدة	أكثر من 25% وأقل من أو يساوي 50%
3	تلوّن شديد	أكثر من 50% وأقل من أو يساوي 75%
4	-	أكثر من 75%

حزم من الأشعة عالية الطاقة بشكل أفقي وتم تعريض الهامسترات لجرعات الشعاعية بشكل تراكمي حيث تم تقسيم الجرعة الشعاعية إلى 2 Gy لمدة 5 أيام بالأسبوع الواحد وذلك تبعاً لـ Shintani وزملاؤه (Shintani et al., 2000) في الجرعة المعطاة في المعالجات الشعاعية الداعمة لـ preoperative (30 gy) ، وكما قام Hadchity (p:6) (Hadchity et al., 2009) بتعريض مجموعة من الفئران لنفس الجرعة الشعاعية بالطريقة التراكمية مقدار 2gy/اليوم في سياق معالجة سرطان شائك الخلايا الفموي. وقد تم التضحية بـ 2 من الهامسترات بعد الأسبوع الأول من التشيع 10gy ثم 2 من الهامسترات بعد الأسبوع الثاني 20 gy ثم تم التضحية بباقي العينة بعد الانتهاء من التشيع بشكل كامل بعد 30 gy وكانت التضحية بحيوانات التجربة بعد أسبوع من اكتمال الجرعة الشعاعية وذلك لإعطاء فترة زمنية لظهور تأثير الخلايا الورمية بالعلاج، ثم قمنا باستئصال الجيب الخدي اليميني وتحضير العينات لحضنها ضمن بلوكات شمعية.

طريقة تحضير الشرائح: 1- يثبت القالب الشمعي على المبشرة النسيجية، ويقطع مقطعان بسماكة 4 ميكرون. 2- توضع المقاطع البارفينية في محم مائي 40°. 3- توضع على الشرائح الزجاجية. 4- توضع الشرائح الزجاجية على سخان. ثم تم التلوّن التقليدي بالهيماتوكسيلين إيوزين

التلوّن المناعي: بعد القطع بالمبشرة النسيجية يتم تسخين السلايدات في فرن 65° لمدة ساعة، ثم يتم الوضع في الإكزيلول والإيتانول ثم المحلول الدائري. توضع السلايدات الحاوية على السلايدات والمحلول المظهر للمستضد في المايكرويف بدرجة حرارة 125 ثم 90. تترك السلايدات لتبرد بدرجة حرارة الغرفة. تزال السلايدات وتغسل بالمحلول الدائري. توضع السلايدات في البيروكسيداز لمدة 5 دقائق. تغسل السلايدات بالمحلول الدائري 3 مرّات ثم يتم وضع

النتائج :

المجموعة الثانية بعد معالجة بمقدار 30gy %75.

الجدول 2.

بينما أظهرت العينات المأخوذة بعد المعالجة الشعاعية ب30gy تليف ورد فعل التهابي وتناقص في وجود الأوعية الدموية ولكن لم نجد فوارق دالة إحصائياً في مقدار تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني بين المجموعتين (الجدول 3) بل وجدنا ارتفاع بشكل نسبي بعدد العينات الآخذة للتعبيرية المرتفعة (المخطط 1).

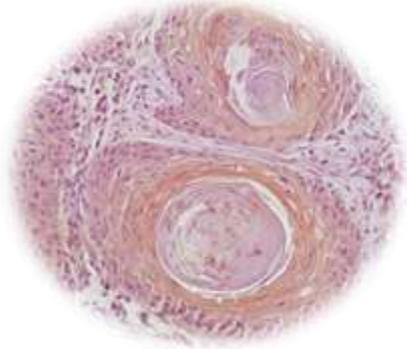
بعد التلوين التقليدي أظهرت لدينا العينات تشكّل سرطان شائك الخلايا الفموي من الدرجة الأولى حيث وجدنا جزر ورمية تحوي بعض مظاهر سوء التصنع البشري مع وجود لآلئ القرنين المتعددة، وبعد التلوين المناعي توزعت التعبيرية الإيجابية للVEGF في هيولى الخلايا البشروية الورمية والخلايا البطانية للأوعية الدموية وتراوحت نسبة تعبيرية هذا الملون بين المرتفعة نسبياً والمتوسطة في أغلب العينات حيث بلغ متوسط مقدار التعبيرية (نسبةً وشدةً) في المجموعة الأولى 7/5.39 وفي المجموعة الثانية بعد معالجة بمقدار 30gy 7/5.64 ومتوسط نسبة الخلايا الإيجابية للمجموعة الأولى 72.5% والمجموعة الثانية وفي



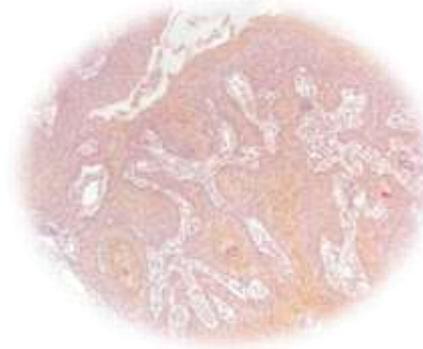
الشكل (2): تظهر تشعب مجموعة من الهامسترات بجهاز الكوبالت 60



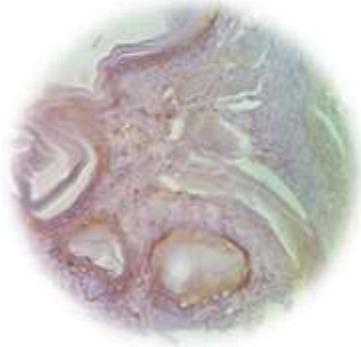
الشكل (1): تظهر تطبيق مادة DMBA على الجيب الخدي اليمين للهامستر



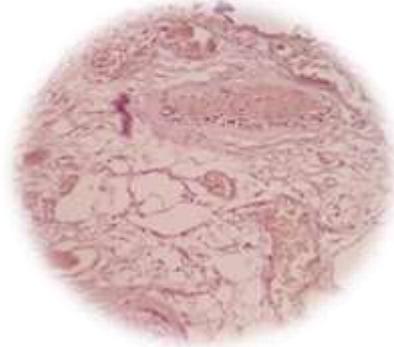
الشكل (4) تظهر تعبيرية إيجابية في هيولى الخلايا البشروية الورمية لعامل النمو الوعائي البطاني(المجموعة الأولى) . تكبير 400



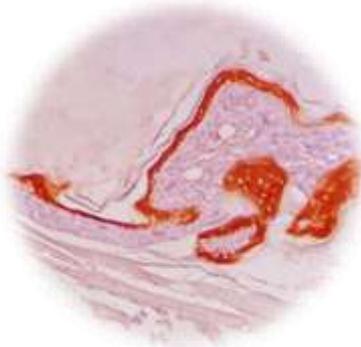
الشكل (3): تظهر تعبيرية إيجابية مرتفعة نسبياً لعامل النمو الوعائي البطاني في الخلايا الورمية (المجموعة الأولى). تكبير 100



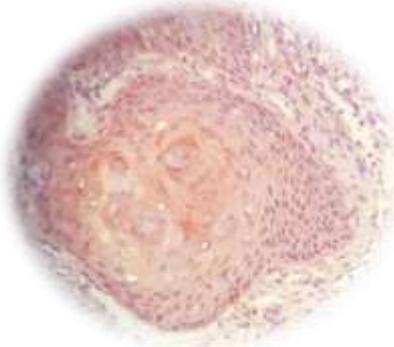
الشكل (6): تظهر تعبيرية مرتفعة للخلايا الورمية لعامل النمو الوعائي البطاني وانخفاض في تشكّل الأوعية الدموية وتناقص في عدد الجزر الورمية (المجموعة الثانية). تكبير 400



الشكل (5): تظهر تعبيرية إيجابية متوسطة الشدة لعامل النمو الوعائي البطاني في الخلايا البطانية للأوعية الدموية ضمن اللحمية الضامة (المجموعة الأولى). تكبير 400



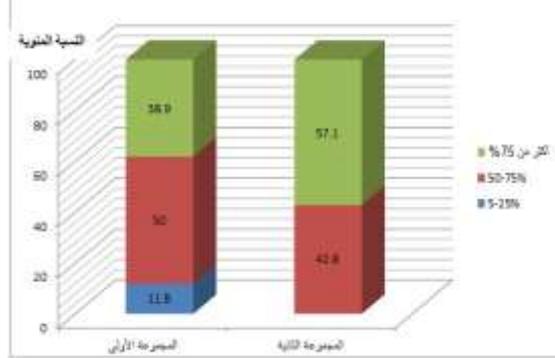
الشكل (8): تظهر تعبيرية إيجابية مرتفعة في الشدة ونسبة الخلايا الإيجابية للـ VEGF للخلايا الورمية (المجموعة الثانية). تكبير 400



الشكل (7): تظهر تعبيرية إيجابية متوسطة الشدة لعامل النمو الوعائي البطاني في هبولى الخلايا الورمية (المجموعة الثانية). تكبير 400

الجدول (2): درجة الخلايا الإيجابية الآخذة للون البني في واسم التثنؤ الوعائي VEGF

المجموع	النسبة المئوية					المجموع	عدد الخزعات النسيجية					
	أكثر من 75%	أكثر من 50% وأقل من أو يساوي 75%	أكثر من 25% وأقل من أو يساوي 50%	أكثر من 5% وأقل من أو يساوي 25%	أقل من أو يساوي 5%		أكثر من 75%	أكثر من 50% وأقل من أو يساوي 75%	أكثر من 25% وأقل من أو يساوي 50%	أكثر من 5% وأقل من أو يساوي 25%	أقل من أو يساوي 5%	
100	38.9	50	11.1	0	0	18	7	9	2	0	0	سرطان شائك الخلايا مستحدث دون معالجة
100	57.1	42.8	0	0	0	14	8	6	0	0	0	سرطان شائك الخلايا مستحدث مع معالجة شعاعية بمقدار 30 غراي



المخطط (1): يمثل النسبة المئوية لنتائج نسبة الخلايا الإيجابية في واسم التنشؤ الوعائي VEGF في عينة البحث.

الجدول (3): نتائج اختبار التباين أحادي الجانب ANOVA

دلالة الفروق	قيمة مستوى الدلالة	قيمة f المحسوبة	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	درجة معالجة السرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث
لا توجد فروق دالة	0.187	1.707	1.03	5.39	scc دون معالجة
			0	5.00	scc معالج شعاعيا بمقدار 10 غراي
			0.71	4.50	scc معالج شعاعيا بمقدار 20 غراي
			0.97	5.64	scc معالج شعاعيا بمقدار 30 غراي

دراسة تأثير درجة معالجة السرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث في قيم مقدار تعبيرية واسم التنشؤ الوعائي VEGF في عينة البحث:

تم إجراء اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم مقدار تعبيرية واسم التنشؤ الوعائي VEGF بين مجموعات درجة معالجة السرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث و تتلخص النتائج في الجدول (3).

ومن نتائج هذا الاختبار وبنسبة 95% إحصائياً لم نجد فروق ذات دلالة إحصائية في قيمة تعبيرية ال VEGF قبل وبعد المعالجة (P=0.187) حيث يدل ذلك أن الخلايا التي لم تبدي استجابة شعاعية بعد 30 gy ولم تعطي أي حساسية إشعاعية أعطت أيضاً تعبيرية إيجابية لهذا الواسم وكانت في غالبية العينات تعبيرية مرتفعة.

المناقشة :

يشكل سرطان شائك الخلايا أكثر من 90% من سرطانات الرأس والعنق ويحدث بشكل رئيسي في الحفرة الفموية والبلعوم (Attar et al., 2010, P:2) وتتميز معظم سلوكيات الأورام الخبيثة ومنهم OSCC في استعمار العقد اللمفية وتشكيل نقائل إلى أماكن بعيدة عن الورم الأصلي إضافة إلى النكس المتكرر للورم بعد المعالجة والغزو الورمي الذي قد يصل إلى الفك العلوي والسفلي (Subarnbhesaj and Miyauchi, p:2 2017)، وهذا يؤدي إلى اتباع طرق علاجية تتضمن استئصال أجزاء من

المعالجات التقليدية مثل المعالجة الشعاعية وهذا ماهدف إليه في دراستنا.

مناقشة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في سرطان شائك الخلايا المستحدث عند الهامستر.

تقاربت نتائج دراستنا مع دراسة Chitransha وزملاؤه (Dr Chitransha Srivastava, 2019 p:5-7) حيث قام بدراسة هذا الواسم في OSCC بدرجات مختلفة ووجد تعبيرية للVEGF في الخلايا الورمية تتراوح بين المرتفعة نسبياً والمتوسطة ولاحظ زيادة في ارتفاع التعبيرية مع الدرجات المتقدمة وقد فسر ذلك إلى وجود إنذار أسوأ وتكاثر للخلايا بشكل أكبر وهذا يتوافق مع ماوجدناه من حيث التعبيرية المرتفعة والمتوسطة ولكن اختلفنا معه من حيث ارتباط الدرجات مع تعبيرية هذا الورم حيث وجدنا ضمن حدود دراستنا ارتفاع في نسبة وشدة الخلايا المتلونة حتى في الدرجة الأولى وقد يعود هذا الاختلاف إلى خواص هذا السرطان التي تعرف بعدم التجانس heterogeneity .

كما تشابهت دراستنا مع Mărgăritescu (Mărgăritescu et al., 2010 p:5) وزملاؤه الذي اقترح استخدام عامل النمو الوعائي البطاني كواسم تشخيصي موثوق للتنبؤ عن مدى قدرة انتشار واستعمار OSCC لأماكن بعيدة وذلك بعدما وجد تعبيرية عالية لهذا الواسم ضمن الخلايا الورمية ولم يجد أي ارتباط بين التعبيرية والمرحلة السريرية وحالة العقد للمفاوية وهذا ما وجدناه في دراستنا حيث شاهدنا تعبيرية عالية ومتوسطة ضمن العينة التي كانت من الدرجة النسيجية الأولى. وهذا يؤكد اقتراحات العديد من الدراسات حول أهمية دراسة الواسمات الإنذارية والتنبؤية بغض النظر عن المعايير التقليدية المتبعة.

الفك والعلاج الشعاعي والكيميائي الذي قد يؤثر على حياة المرضى بالإضافة إلى الآثار النفسية (Brown et al., 2002 p:1) وعلى الرغم من التطورات التشخيصية والعلاجية الحديثة، فإن معرفة إنذار هذا الورم لا يزال ضعيفاً فأصبحت دراسة السلوك البيولوجي المختلف لهذه الأورام التي تظهر عدوانية متغيرة بغض النظر عن الدرجات السريرية مثل TNM والدرجات النسيجية المرضية حاجة ملحة، ومنها دراسة عوامل النمو، دورة الخلية، تولد الأوعية والجزئيات المرتبطة التي تساعد على التنبؤ بالعدوانية والاستجابة للعلاج (Dr Chitransha p:2 Srivastava, 2019)

كما أصبح من الشائع أن الغزو الموضعي مصحوباً بالتنشؤ الوعائي. وقد أدى ذلك إلى الاهتمام بدراسة العلاقة بين تكوين الأوعية الورمية والتشخيص في السرطان ودور تثبيطه في العلاج (Shintani et al., 2000) وأشارت عدة دراسات عن وجود علاقة متبادلة بين زيادة الأوعية الدموية للورم وسوء الإنذار (Shintani et al., 2000 p:3, Bochner et al., 1995).

وهناك اهتمامات كبيرة للعلاجات التي تقوم على إبطاء تقدم OSCC حيث ركزت الدراسات الحديثة على الأدوية المحتملة التي تستهدف VEGF أو نظام إشارات مستقبلاته بسبب نشاطها المعزز لتكوين الأوعية على مستوى الخلايا البطانية. وتم تطوير مثبطات تكوين الأوعية كعوامل مضادة للسرطان مع بيانات تظهر فعالية واعدة في تقليل OSCC في النماذج المخبرية. حيث تنبأت أن إعطاء عوامل مثبطات تكوين الأوعية مع العلاج الكيميائي والعلاج الإشعاعي يمكن أن يحسن فعالية هذه العلاجات (Ferrara, 2020 p:6). وللتأكد من فعالية استهداف التنشؤ الوعائي في OSCC يجب التحري عن تعبيريته في سياق

ولكن مازالت الآليات البيولوجية التي تشرح التأثيرات التآزرية التي لوحظت لم يتم تحديدها بوضوح حتى الآن فيبدو أن مضادات تكوّن الأوعية قادرة على إحداث انخفاض مؤقت في نقص الأكسجة في الورم عن طريق تثبيط تشكل الأوعية الدموية للورم. ومع ذلك فهناك العديد من الأمور المبهمة التي يجب توضيحها فيما يتعلق بسمية هذه العلاجات والجرعات وتحديد تسلسل العلاج الأفضل (p:3-5 Dos Reis et al., 2021).

الاستنتاجات:

نستنتج في ضوء هذا البحث أن الخلايا التي تعبر عن عامل النمو الوعائي البطاني VEGF لا تبدي استجابة للعلاج الإشعاعي بحزم عالية الطاقة بأشعة غاما الصادرة من جهاز الكوبالت 60 وذلك حتى بعد جرعة تراكمية قدرها Gy 30 وهذا ينبأ عن ضرورة استهداف هذه الخلايا بوسائل أخرى غير الأشعة مثل العلاجات الموجهة targeted therapy anti-VEGF.

المقترحات :

نقترح إجراء دراسة مماثلة على جميع درجات سرطان شائك الخلايا ومقارنة تعبيرية هذا العامل بعد التعريض للأشعة كما نقترح استحداث سرطان شائك الخلايا الفموي عند حيوانات تجرية أخرى واستخدام جهاز تشعيع قادر على عزل المنطقة المراد تشعيها. وتجربة إعطاء أدوية anti-angiogenic قبل العلاج الشعاعي وبعده ومقارنة أيهما يعطي استجابة أفضل.

مناقشة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في سرطان شائك الخلايا المستحدث عند الهامستر بعد تقديم المعالجة الشعاعية.

تقاربت نتائج دراستنا مع دراسة Shintani وزملاؤه (p:6 Shintani et al., 2000) الذي درس تعبيرية هذا الواسم بعد تقديم معالجة 30 Gy لسرطان شائك الخلايا الفموي وأخذ خزعة من المرضى بعد تطبيق هذه المعالجة التحضيرية للاستئصال الجراحي preoperative ووجد تغييرات في التعبيرية قبل وبعد المعالجة حيث وجد أن هناك إما ازدياد أو عدم تغيير في التعبيرية وبعده أقل كان هناك تناقص في التعبيرية وهذا ماحصلنا عليه أيضاً في دراستنا وذلك يؤكد أن الخلايا التي تعبر عن عامل النمو الوعائي البطاني تقاوم العلاج الإشعاعي بشكل أكبر وهذا مايدفعنا إلى اقتراح أهمية تشارك علاج anti-VEGF مع المعالجة الشعاعية حتى وإن كانت المعالجة الشعاعية المقدمة هي معالجة تحضيرية للاستئصال الجراحي فهذا يقلل من احتمالية النكس المتكرر بشكل كبير.

لم نجد العديد من الدراسات السابقة المماثلة لدراستنا في سرطان شائك الخلايا الفموي بعد تقديم المعالجة الشعاعية ولكن قام Melani وزملاؤه (Green et p:6 al., 2007) بتقييم عامل النمو الوعائي البطاني في سرطان البروستات بعد المعالجة الشعاعية وأكد أن التعبيرية المرتفعة لهذا الواسم تشير إلى خطر فشل المعالجة الشعاعية وعدم استجابة الخلايا المستهدفة واقتراح أهمية إدخال استراتيجيات تتضمن anti-angiogenic أو استهداف عوامل الخاصة بنقص الأكسجة hypoxia-specific agents

References:

1. ATTAR, E., DEY, S., HABLAS, A., SEIFELDIN, I. A., RAMADAN, M., ROZEK, L. S. & SOLIMAN, A. S. 2010. Head and neck cancer in a developing country: a population-based perspective across 8 years. *Oral Oncol*, 46, 591-6.
2. BOCHNER, B. H., COTE, R. J., WEIDNER, N., GROSHEN, S., CHEN, S. C., SKINNER, D. G. & NICHOLS, P. W. 1995. Angiogenesis in bladder cancer: relationship between microvessel density and tumor prognosis. *J Natl Cancer Inst*, 87, 1603-12.
3. BROWN, J. S., LOWE, D., KALAVREZOS, N., D'SOUZA, J., MAGENNIS, P. & WOOLGAR, J. 2002. Patterns of invasion and routes of tumor entry into the mandible by oral squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 24, 370-83.
4. CABRERA-RODRÍGUEZ, J. J. 2016. The role of radiotherapy in the treatment of oral cavity cancer. *parjournal*.
5. DEWHIRST, M. W., CAO, Y. & MOELLER, B. 2008. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer*, 8, 425-37.
6. DOS REIS, R. B., RODRIGUES, A. A. J., FERES, R. N. & MUGLIA, V. F. 2021. Editorial Comment: Evaluation of HIF-1alpha and VEGF-A expression in radiation-induced cystitis: A case-control study. *Int Braz J Urol*, 47, 306-307.
7. DR CHITRANSHA SRIVASTAVA, D. A. B. B., DR RUMPA DAS, DR PUNEET MAHESHWARI 2019. Tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma- An immunohistochemical study with VEGF. *JMSCR*, <https://jmscr.igmpublication.org/home/index.php/archive/160-volume-07-issue-03-march-2019/7073-tumor-angiogenesis-in-oral-squamous-cell-carcinoma-an-immunohistochemical-study-with-vegf#abstract>.
8. FAN, F., WEY, J. S., MCCARTY, M. F., BELCHEVA, A., LIU, W., BAUER, T. W., SOMCIO, R. J., WU, Y., HOOPER, A., HICKLIN, D. J. & ELLIS, L. M. 2005. Expression and function of vascular endothelial growth factor receptor-1 on human colorectal cancer cells. *Oncogene*, 24, 2647-2653.
9. FERRARA, B. R. A. E. 2020. Vascular Endothelial Growth Factor Expression in the Pathological Angiogenesis in Oral Squamous Cell Carcinoma, . *Oral Diseases*, <https://www.intechopen.com/chapters/70834>.
10. FERRARA, N. 2004. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev*, 25, 581-611.
11. GREEN, M. M., HILEY, C. T., SHANKS, J. H., BOTTOMLEY, I. C., WEST, C. M., COWAN, R. A. & STRATFORD, I. J. 2007. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in locally invasive prostate cancer is prognostic for radiotherapy outcome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 67, 84-90.
12. HADCHITY, E., ALOY, M.-T., PAULIN, C., ARMANDY, E., WATKIN, E., ROUSSON, R., GLEAVE, M., CHAPET, O. & RODRIGUEZ-LAFRASSE, C. 2009. Heat Shock Protein 27 as a New Therapeutic Target for Radiation Sensitization of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Molecular Therapy*, 17, 1387-1394.
13. KHAN, T., RELITTI, N., BRINDISI, M., MAGNANO, S., ZISTERER, D., GEMMA, S., BUTINI, S. & CAMPANI, G. 2020. Autophagy modulators for the treatment of oral and esophageal squamous cell carcinomas. *Med Res Rev*, 40, 1002-1060.
14. LEEMANS, C. R., BRAAKHUIS, B. J. & BRAKENHOFF, R. H. 2011. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer*, 11, 9-22.
15. MARCU, L. G., DASU, I. T. & DASU, A. 2015. The Six Rs of Head and Neck Cancer Radiotherapy. *Contemporary Issues in Head and Neck Cancer Management*.

16. MĂRGĂRITESCU, C., PIRICI, D., STÎNGĂ, A., SIMIONESCU, C., RAICA, M., MOGOANTĂ, L., STEPAN, A. & RIBATTI, D. 2010. VEGF expression and angiogenesis in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical and morphometric study. *Clin Exp Med*, 10, 209-14.
17. MARTÍNEZ B, D. A., BARATO GÓMEZ, P. A., IREGUI CASTRO, C. A. & ROSAS PÉREZ, J. E. 2020. DMBA-Induced Oral Carcinoma in Syrian Hamster: Increased Carcinogenic Effect by Dexamethasone Coexposition. *BioMed Research International*, 2020, 1470868.
18. MAZERON, R., AZRIA, D. & DEUTSCH, E. 2009. [Angiogenesis inhibitors and radiation therapy: from biology to clinical practice]. *Cancer Radiother*, 13, 568-73.
19. RODRIGUES, M., XAVIER, F. C. A., ANDRADE, N. P., LOPES, C., MIGUITA LUIZ, L., SEDASSARI, B. T., IBARRA, A. M. C., LOPEZ, R. V. M., KLIEMANN SCHMERLING, C., MOYSES, R. A., TAJARA DA SILVA, E. E. & NUNES, F. D. 2018. Prognostic implications of CD44, NANOG, OCT4, and BMI1 expression in tongue squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 40, 1759-1773.
20. SHINTANI, S., KIYOTA, A., MIHARA, M., NAKAHARA, Y., TERAKADO, N., UEYAMA, Y. & MATSUMURA, T. 2000. Association of preoperative radiation effect with tumor angiogenesis and vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res*, 91, 1051-7.
21. SIEGEL, R. L., MILLER, K. D. & JEMAL, A. 2019. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*, 69, 7-34.
22. SUBARNBHESAJ, A. & MIYAUCHI, M. 2017. Roles of VEGF-Flt-1 signaling in malignant behaviors of oral squamous cell carcinoma. 12, e0187092.
23. VAIRAKTARIS, E., SPYRIDONIDOU, S., PAPAKOSTA, V., VYLLIOTIS, A., LAZARIS, A., PERREA, D., YAPIJAKIS, C. & PATSOURIS, E. 2008. The hamster model of sequential oral oncogenesis. *Oral Oncology*, 44, 315-324.

