

دراسة مقارنة لتعبيرية بروتين التخلق العظمي-2 في الدرجات النسيجية للسرطان شائك الخلايا الفموي

الدكتور شريف بركات*

الدكتور علي أبو سليمان**

خالد وليد زيد***

(تاريخ الإيداع 29 / 5 / 2016. قُبِلَ للنشر في 30 / 3 / 2017)

□ ملخص □

خلفية البحث وهدفه : يلعب بروتين التخلق العظمي BMP-2 (Bone morphogenetic protine-2) دوراً رئيسياً في تمايز الخلايا الميزانشيمية إلى خلايا بانية للعظم عبر العديد من السبل داخل الخلية التي تتقاطع مع السبل الورمية. يعد السرطان شائك الخلايا الفموي من التنتشوات الورمية العدوانية، وهو يشكل أكثر من 90% من الأورام الخبيثة في منطقة الرأس و العنق، ويصنّف إلى ثلاث درجات وفقاً لتمايز الخلايا البشرية فيه. تهدف هذه الدراسة إلى تحري وجود أي تغيرات في تعبيرية بروتين BMP-2 بين الدرجات النسيجية للسرطان شائك الخلايا الفموي. مواد البحث وطرائقه: تمت في هذه الدراسة مقارنة تعبيرية بروتين BMP-2 عند 27 مريضاً (19 ذكور + 8 إناث) تراوحت أعمارهم بين (22-74) سنة، بمتوسط عمري (48) سنة، وهم مرضى يعانون من سرطان فموي شائك الخلايا، تمّ فرزهم إلى 3 مجموعات حسب درجة الإصابة، بحيث تحوي كل من المجموعات الثلاث 9 مرضى، بعد التلوين بطريقة كيميائية نسيجية، تم مقارنة تعبيرية البروتين مع الدرجات النسيجية المختلفة للسرطان شائك الخلايا الفموي.

النتائج: لوحظ من خلال تحليل النتائج الاحصائية أن تعبيرية بروتين BMP-2 غير مرتبطة مع الدرجة النسيجية للورم، حيث لم تتأثر شدة التعبيرية بدرجة تمايز الورم نسيجياً . كما لم يتأثر التوضع الغشائي للبروتين أو تعبيريته في الهيولى مع ازدياد الدرجة الورمية. الإستنتاج : ضمن حدود هذه الدراسة تبين أنّ تعبيرية بروتين BMP-2 لا يمكن أن تمثلّ واسماً انذارياً للدرجة النسيجية في السرطان شائك الخلايا الفموي بدرجاته النسيجية.

الكلمات المفتاحية : السرطان شائك الخلايا الفموي ، بروتين BMP-2 ، الدرجة النسيجية.

*أستاذ مساعد - قسم النسيج والتشريح المرضي الخاص بالفم والأسنان - كلية طب الأسنان -جامعة دمشق - سورية.

**أستاذ مساعد - قسم النسيج والتشريح المرضي الخاص بالفم والأسنان - كلية طب الأسنان -جامعة دمشق - سورية.

***طالب دراسات عليا (دكتوراه)- قسم النسيج والتشريح المرضي الخاص بالفم والأسنان - كلية طب الأسنان -جامعة دمشق - سورية.

Comparative Study of the Expression of Bone Morphogenetic Protein-2 in the Histological Grades of Oral Squamous Cell Carcinoma

Dr. Shareef Barakat*
Dr. Ali Abo Soleman**
Khaled Waleed Zaid***

(Received 29 / 5 / 2016. Accepted 30 / 3 / 2017)

□ ABSTRACT □

Background and Objective : Bone morphogenic protine-2 (BMP-2) plays an essential role in mesenchymal cells differentiation into osteoblasts, through many intracellular pathways which crosses with tumoral pathways . Oral squamous cell carcinoma is an invasive epithelial neoplasm, counts more than 90% of head and neck malignancies. It is classified into three degrees according to the epithelial cells differentiation. The study aimed to investigate the changes in BMP-2 expression according to the histological degrees of the tumor.

Materials and methods : In the present study, BMP-2 expression was compared immunohistochemically among oral squamous cell carcinoma in 27 cases (19 male+8 female) ranging between (22-74) years, mean age of (48) years. Patients have been divided into 3 groups (each contain 9 case) according to the histological grade.

Results : By analyzing the statistical results, No significant correlation between BMP-2 expression and the histological grad was observed. The severity of expression was not affected by the tumour degree. Changes in membranous localization and intense cytoplasmic staining were also not observed.

Conclusion : according to this study BMP-2 does not represent a prognostic marker for the histological grade of oral squamous cell carcinoma.

Keywords : BMP-2, Oral squamous cell carcinoma, histologic differentiation.

*Assistant Professor, department of oral histology and pathology, Faculty of Dentistry, Damascus university, Syria.

**Assistant Professor, department of oral histology and pathology, Faculty of Dentistry, Damascus university, Syria

***Postgraduate Student, department of Oral histology and pathology, Faculty of Dentistry, Damascus university, Syria.

مقدمة :

يعد السرطان الفموي شائك الخلايا من التنتشوات الورمية الظهارية العدوانية التي تمتاز بدرجات مختلفة من التمايز الحشفي والنزوع إلى الاستعمار المبكر والشديد للعقد اللمفاوية، كما يميل بشكل واضح إلى إصابة الذكور البالغين في العقدين الخامس و السادس. يشكّل هذا الورم أكثر من 90% من خباثات الرأس و العنق، ويمثل 5% من مجمل السرطانات لدى الذكور و 2% لدى الإناث. يحدث على حساب المخاطية المبطنّة و نادراً على حساب الغدد اللعابية الصغيرة أو النسيج الرخوة. [1، 2]

تقوم عوامل النمو بأدوار هامة في تطوّر الخلية و تمايزها و إحداث النمط الشكلي للخلية إضافة إلى الحفاظ على التكامل البنيوي، [3] كما تشارك بشكل كبير في نقل الإشارات الضرورية للحفاظ على تماسك الارتباط الخلوي وقابلية الخلية للحركة و نموها و موتها المبرمج إضافة إلى دورها في تنظيم بعض المورثات. [4]

شكلت التنتشوات الورمية و الامراضيات المرتبطة باستعمال المواد السنية الحديثة العهد و التي تعمل على المستوى الجزيئي داخل الخلوي وتتداخل بشكل أو بآخر مع السبل الورمية و الاشارات داخل الخلية مصدراً للقلق عند العديد من الممارسين لمهنة طب الاسنان .

ومنذ أمد ليس ببعيد تم عزل بروتين rh-BMP2 بدمج المورثات المأخوذة من الانسان في بكتريا الاشريشيا كولي وفق تقنية تدعى (recombinant technology) لاستخدامه كمادة مساعدة في ترميم العيوب العظمية ، وقد حظي هذا المنتج بموافقة منظمة الغذاء و الدواء الامريكية في العام 2007 ، واشترطت استخدامه في استطبانات وجرعات محددة جداً ، وفرضت على مصنعي المنتج اظهار استطبانات و مضادات الاستطباب لهذا البروتين و التي تشمل وجود حالات تسرطن سابقة ، ما يفتح باب التساؤلات حول دور هذا البروتين في عملية التشكل الورمي .

تعد البروتينات المخلفة للعظم BMPs من أشهر البروتينات التي تقوم بدور عوامل النمو، وهي عائلة من الغليكوبروتينات المشتقة من القالب العظمي . تحرّض هذه البروتينات الخلايا الميزانشيمية على التمايز إلى خلايا عظمية ، ورغم أنها تتواجد بكميات ضئيلة في الجسم إلا أن فعاليتها قد ثبتت في العديد من الدراسات.

تبين بأن بروتين BMP2 يكبح نسايل الخلايا الورمية في سرطانات البروستات و المبايض و الثدي ، كما أشارت بيانات غير منشورة من قبل احد الشركات المصنعة لهذا البروتين إلى وجود تأثيرات مثبطة في حالات الساركوما وسرطانات البروستات و الرئة [5].

رغم عدم وجود أي أدلة مباشرة على احداثها للأورام فإن مصنعي هذا البروتين يصرون على منع استعمال هذا البروتين في حال وجود قصة ورمية سابقة . وقد ركزت العديد من الدراسات على النقاط التالية

للبحث عن تقارير حول تطور أورام أولية أو ثانوية عند المرضى الذين خضعوا للعلاج ب rh-BMP2 .

مراقبة تطور الاورام لدى المرضى

للحاجة إلى دراسات مقارنة لانتشار الاورام عند المرضى المعالجين ب rhBMP2 و المرضى غير المعالجين

به .

وقد اشارت مراقبة 500000 مريض عولجوا بال rh-BMP2 حول العالم إلى عدم وجود خباثات ناجمة عن استعماله سريريا مع استمرار المراقبة . كما أشير إلى ان تواتر حدوث الخباثات لدى المرضى المعالجين الـ rh-BMP2 في الدراسات السريرية التي قارنت التعداد السكاني العام وقسمته حسب الجنس و العرق و العمر و باستخدام مشعرات مقياسية، إلى انه لا يوجد زيادة في تواتر حدوث الخباثات مقارنة مع التعداد السكاني العام [6، 7].

ان الحسنات الكامنة لهذه البروتينات يجب التعامل معها بحذر رغم قلة البيانات السريرية التي تشير إلى زيادة خطر احداثها للنتشوءات الورمية ، كما توجب علينا البحث عن آليات عمل وتأثير هذه المواد على المستوى النسيجي والخلوي لمعرفة تقاطعاتها مع السبل الورمية و تجنبها ما أمكن .

تحافظ بروتينات التخلق العظمي على استقطاب الخلايا الظهارية من خلال الاشارات الخلوية الصادرة عن مستقبلاتها ، ففي الخلايا الظهارية المستقطبة تنتقل اشارات الـ BMP من المستقبلات المتوضعة حصراً على السطح الجانبية القاعدية basolateral للأغشية الخلوية . كما أن التحفيز القاعدي الجانبي باستخدام الـ BMP يزيد من تعبيرية الموصلات المحكمة Tight junctions ويزيد من المقاومة عبر الظهارية TER [8]. لذلك فمن المفترض أن أي فقد او انخفاض في هذا البروتين على مستوى الغشاء الخلوي يترافق مع نقص في الارتباط بين الخلوي.

يشكل السرطان الفموي شائك الخلايا 95% من السرطانات الفموية في الهند [9] وعامل الخطورة الأهم لحدوث هذا الورم هو مضغ التبغ ثم ادمان الكحول [10] وقد تبين مؤخراً وجود دور للإصابة بالانتان الناجم عن الفيروس الحلبي البشري HPV و الحمية الغذائية التي تقتصر إلى الفواكه و الخضراوات الطازجة [11] . يصنف هذا السرطان نسيجياً في ثلاث درجات وقد تم اعتماد تصنيف منظمة الصحة العالمية 2005 [12] كما في الجدول رقم (1)

الجدول (1) المعايير المتبعة في تقييم الدرجة النسيجية.

الدرجة النسيجية	الدرجة I (جيد التمايز)	الدرجة II (متوسط التمايز)	الدرجة III (ضعيف التمايز)
كرات التقرن	كثيرة العدد	متوسطة العدد	قليلة أو معدومة
علائم الكشم الخلوي	أقل من 25%	حول 50%	أكثر من 75%
نمط الغزو	جزر كبيرة	جزر أو حبال متوسطة	جزر صغيرة أو حبال رقيقة وخلايا مفردة
الاستجابة المناعية	غزيرة	متوسطة	قليلة أو معدومة

لقد قامت الكثير من الدراسات بتقييم تعبيرية بروتين BMP-2 في الأنسجة الخبيثة وقد اعتمد أغلبها على التقييم العامة للملون الكيموماعي النسيجي دون اجراء تعداد للخلايا أو ايضاح لطبيعة الشذوذ في البروتين المدروس.

أهمية البحث وأهدافه:

تقييم دور بروتين BMP-2 كواسم انذاري وتحري تغيراته في الدرجات النسيجية المختلفة للسرطان شائك الخلايا في الرأس و العنق .

طرائق البحث ومواده:

قمنا باجراء دراستنا مخبرياً على أنسجة مدمجة بشمع البرافين بعد تثبيتها بالفورمالين، حيث سبق أن شخّصت هذه الانسجة على أنها مصابة بالسرطان شائك الخلايا في المنطقة الفموية. تم الحصول على العينة من أرشيف قسم

النسج و التشريح المرضي في كلية طب الاسنان بجامعة دمشق بعد أن حظي بروتوكول الدراسة بالموافقة الأخلاقية و القانونية .

تم تقييم 27 حالة سرطان شائك خلايا فموي وتصنيفها بعد تلويئها بالهيماتوكسيلين إيوزين إلى ثلاث درجات نسيجية حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية هي : 9 حالات سرطان شائك الخلايا جيد التمايز ، 9 حالات سرطان شائك الخلايا متوسط التمايز ، 9 حالات سرطان شائك الخلايا ضعيف التمايز . كما تم تلويين 5 عينات نسيجية فموية سليمة أخذت من منطقة المثلث خلف الرحوي لمرضى قلع جراحية وذلك لضبط الملون المناعي .

طريقة العمل :

طريقة تحضير الشرائح: 1- يثبت القالب الشمعي على المبرشة النسيجية، ويقطع بسماكة 4 ميكرون. 2- توضع المقاطع البارفينية في محم مائي 40°. 3- توضع على الشرائح الزجاجية. 4- توضع الشرائح الزجاجية على سخان.

التلويين بالإيوزين والهيماتوكسيلين: توضع الشرائح في حمامين من الاكزيلول 2 د، ثم الوضع في الكحول المطلق، ثم الكحول 95%، ثم 70%، 50% لمدة 2 د لكل حمام. بعدها يتم الغسل في الماء وتوضع في الهيماتوكسيلين بضع دقائق ثم تُغسل، ثم توضع في الإيوزين 1- 5 د، تغسل بالماء، ثم توضع في حمامات الكحول والاكزيلول المتعاقبة وبعدها يتم الستر باستخدام بلسم كندا.

التلويين المناعي: بعد القطع بالمبرشة النسيجية يتم تسخين السلايدات في فرن 65° لمدة ساعة، ثم يتم الوضع في الإكزيلول والإيتانول ثم المحلول الدارئ. توضع السلات الحاوية على السلايدات والمحلول المظهر للمستضد في المايكرويف بدرجة حرارة 125 ثم 90. تترك السلايدات لتبرد بدرجة حرارة الغرفة. تزال السلايدات وتغسل بالمحلول الدارئ. توضع السلايدات في البيروكسيداز لمدة لمدة 5 د. تغسل السلايدات بالمحلول الدارئ 3 مرات ثم يتم وضع الضد الأولي (Primary Antibody) لمدة 45 د ، استخدم الضد الأولي Anti-BMP2 antibody من شركة abcam. ثم تغسل 3 مرات بالمحلول الدارئ، يغطي النسيج بـ HRP لمدة 45 د، والغسل بالمحلول الدارئ ، ثم يُحضّر الـ chromogen ويُطبّق على النسيج 10 د وتغسل السلايدات بالماء المقطّر 5 مرات، بعدها تلون السلايدات بالهيماتوكسيلين.

طرائق دراسة الشرائح النسيجية : تم انتقاء خمسة ساحات نسيجية من كل شريحة بحيث تحتوي جزراً من الخلايا الورمية، تمت دراسة تعبيرية الملون في الخلايا الورمية ، و قمنا بحساب نسبة الخلايا المتلونة إلى مجمل الخلايا الظهارية في الساحة النسيجية.

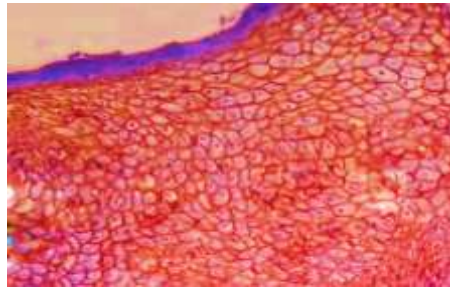
الطرائق الإحصائية : تم استخدام برنامج SPSS v.19 لتحليل البيانات التي حصلنا عليها إحصائياً، كما استعنّا ببرنامج (MS Excel 2010) لإنجاز الرسوم البيانية، وبرنامج G*power لحساب حجم العينة، كما تم اجراء اختبار تحليل One-Way-Anova، حيث صيغت الفرضيات التي يختبرها بالشكل التالي:

فرضية العدم H_0 : العينات المدروسة تعود إلى المجتمع نفسه، أي لا يوجد فرق معنوي بين العينات أو لا توجد فروق معنوية بين متوسطات المجموعات.
 الفرضية البديلة H_1 : العينات المدروسة تعود إلى مجتمعات مختلفة ، أي يوجد فرق معنوي بين العينات أو توجد فروق معنوية بين متوسطات المجموعات.
 و في حال وجود فروق، نجري اختبار توكي Tukey لدراسة الفروق بين كل مجموعتين مثلى مثلى.

النتائج والمناقشة:

النتائج :

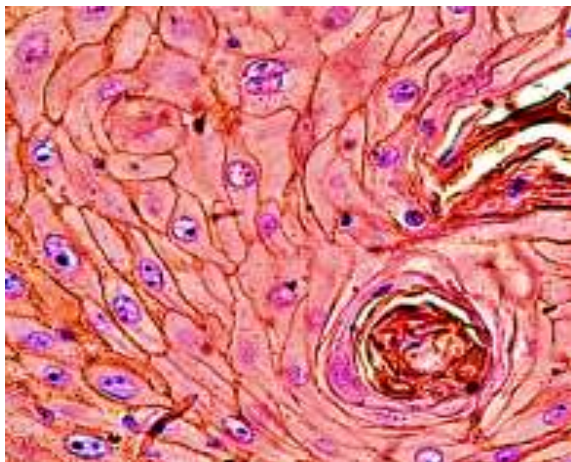
أظهرت العينات المأخوذة من البشرة الفموية السليمة تعبيرية غشائية لـ $BMP-2$ ، دون أن تبدي أي تعبيرية في الهيولى أو في النواة، كما في الصورة رقم (1).



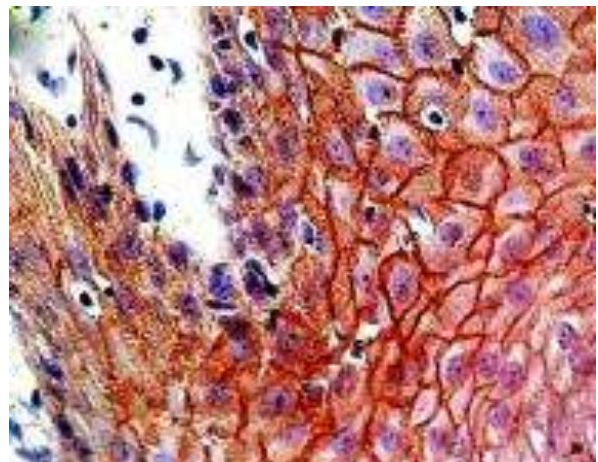
الصورة رقم (1) الظهارة الفموية السليمة وهي تبدي تعبيرية غشائية للملون،

تكبير 100 مرة .

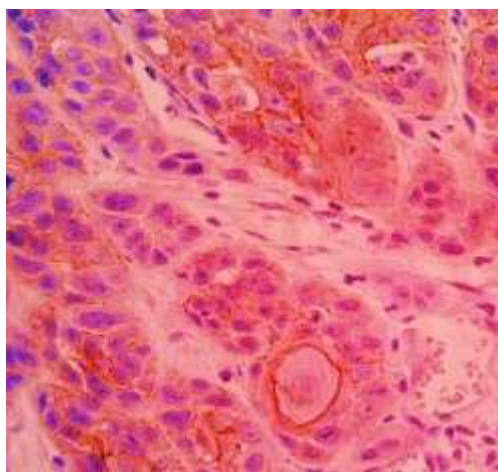
أظهر التلوين المناعي لعينات الدراسة درجات متقاربة من شدات التلون في جميع الدرجات النسيجية للورم. ولم يلاحظ أي تموضع شاذ للبروتين سواء في الهيولى أو الأنوية ، كما في الصور رقم (2)، (3)، (4).



الصورة رقم (3) تعبيرية ملون $BMP-2$ في السرطان الفموي شائك الخلايا متوسط التمايز، تكبير 400 مرة .



الصورة رقم (2) تعبيرية $BMP-2$ في السرطان شائك الخلايا الفموي جيد التمايز، تكبير 400 مرة .



الصورة رقم (4) تعبيرية ملون BMP-2 في السرطان شائك الخلايا الفموي ضعيف التمايز، تكبير 400 مرة .

تم حساب نسبة الخلايا التي أبدت تعبيرية للملون في عينات الدراسة، و يتلخص الإحصاء الوصفي لنسب الخلايا المتلوثة لدى المرضى في المجموعات الثلاث في الجدول رقم (2) :

جدول رقم (2) : نسبة الخلايا المتلوثة في عينة الدراسة

أعلى قيمة	أدنى قيمة	الانحراف المعياري	المتوسط	الدرجة النسيجية للسرطان شائك الخلايا الفموي
71.217 %	51.886 %	3.558 %	60.218 %	جيد التمايز
63.818 %	49.789 %	6.476 %	56.971 %	متوسط التمايز
67.141 %	50.772 %	5.591 %	55.864 %	ضعيف التمايز
71.217 %	49.789 %	8.971 %	57.684 %	كامل العينة

للتحقق من وجود فروق في متوسطات نسب الخلايا المتلوثة بين المجموعات الثلاث ، تجري اختبار تحليل التباين One-Way ANOVA و تتلخص النتائج كما في الجدول رقم (3) :

جدول رقم (3) نتيجة اختبار التحقق من فروق المتوسطات

الإحصاء الاختبار	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
F	0.176 *	لا توجد فروق معنوية إحصائية
26.326		

تبين نتائج الإختبار عدم وجود فروق معنوية إحصائية في متوسط النسب للخلايا المتلوثة بين الدرجات النسيجية الثلاث، وتم اجراء اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثنى مثنى، وتتلخص النتائج في الجدول رقم (4) :

جدول رقم (4) اختبار Tukey لدراسة الفروق بين المجموعات مثني مثني

مستوى الدلالة P.value	فرق المتوسطات	المجموعتان المقارنتان	
* 0.821	4.548	متوسط التمايز	جيد التمايز
* 0.714	4.841	ضعيف التمايز	جيد التمايز
* 0.752	1.293	ضعيف التمايز	متوسط التمايز

نلاحظ عدم وجود فروق معنوية في متوسطات نسب الخلايا المتولدة بين المجموعات الثلاث ، و ذلك بثقة إحصائية 95 %.

المناقشة :

يعد بروتين BMP-2 عامل النمو القيادي في تحريض عمليات البناء و الاستقلاب العظمي ، وهو يستخدم اليوم في العديد من المجالات الطبية لترميم و اصلاح عيوب النسيج العظمي ، وقد استخدم هذا البروتين على نطاق واسع في الجراحات الفكجية وزراعة الأسنان بعد حصوله على ترخيص وكالة الغذاء و الدواء الأمريكية عام 2007 .

وقد اعتبرت الطعوم العظمية الحاوية على بروتين BMP-2 مؤخراً مواداً ذات قيمة عالية في ترميم العيوب العظمية في الوجه و الحفرة الفموية ، لكن العديد من الدراسات المخبرية و السريرية أشارت إلى وجود تقدم سرطاني كأحد التأثيرات الجانبية التي يسببها هذا البروتين [13].

قمنا في هذه الدراسة بتحري تعبيرية هذا البروتين في الدرجات النسيجية للسرطان الفموي شائك الخلايا الذي يمثل أكثر من 90% من خباثات منطقة الوجه و الفكين، ولم نجد أي فروق ذات دلالة في تعبيرية البروتين بين الدرجات النسيجية للورم. لم نجد من خلال مراجعة الأدب الطبي أبحاثاً تحرت تعبيرية هذا البروتين في اطار سرطانات الفم فقط ، وكانت نتائج معظم الدراسات متباينة حسب نوع النسيج المدروس .

يلعب الـ BMP-2 دوراً مزدوجاً في التثؤ الورمي حيث يقوم بدور الجينات الورمية oncogenes و ككبح للتثؤ الورمي ، لذلك من الممكن أن يفقد الخلل في اشارات هذا البروتين إلى زيادة حدوث التثؤات الورمية ، تتواسط هذه الزيادة حسب الدراسات على الكائنات الحية بتحفيز و تحريض التكون الوعائي المستحدث angiogenesis وكبح الرقابة المناعية و تعزيز تخرب القلب خارج الخلوي [14].

لايزال دور بروتين BMP-2 في الخلايا السرطانية مثاراً للجدل وقد يكون هذا الدور متوقفاً على نوع النسيج والبيئة التي يطبق فيها [15] ، وقد نقصى العديد من الباحثين العلاقة بين بروتينات التخلق العظمي و السرطن وأشار العديد منهم إلى أن العديد من هذه البروتينات مثل BMP-2، BMP-4، BMP-6، BMP-7 تتشارك في العديد من الأنماط السرطانية ، كما أشارت العديد من الدراسات إلى تغير تعبيريتها وانتظامها [16-20].

يقال الـ BMP-2 التكاثر الخلوي في معظم الأنماط السرطانية مثل سرطان الكولون و الكبد و العظام و الكلى [21-24] وله دور محدد في العديد من الأورام كسرطان الرئة [25, 26] حيث يرتبط المستوى المصلي للـ BMP-2 ايجابياً مع المراحل السريرية و قد يستخدم كمشعر انذاري سلبي مستقل في التشخيص [25] . لا يمارس هذا البروتين أي تأثير على نمو وتطور سرطان البروستات أو تكاثر خلاياه [27] . لكن العديد من الأبحاث على سرطانات الفم والثدي و المعدة والكولون والمثانة و البنكرياس أظهرت بأن BMP-2 يؤثر ايجاباً على قدرة هذه الأورام على الغزو

[13, 16, 28]. كما وجد بأن التعبيرية المرتفعة لهذا البروتين في أنسجة سرطان المبيض تتوافق مع نسبة بقاء أقصر عند المرضى [17].

يكبح BMP-2 عملية الاستموات التي يحرضها عامل TNF α في الخلايا السرطانية [29]. كما أن فرط تعبيرية BMP-2 قد تتواسط عمليات الحركة الخلوية و الارتباط الخلوي.

يكبح الـ BMP-2 تكاثر الخلايا في سرطان الثدي [30]، في حين أن الأنماط الأخرى قد تعزز بشكل غير مباشر تكاثر الخلايا السرطانية في الثدي مثلما يفعل الـ BMP-4 [31]. كما يمكن أن تساهم بروتينات التخلق العظمي في السيطرة على نمو الخلايا السرطانية التي يتم تحريضها من قبل عوامل غير الوسائط الخلوية. مثل يقوم الـ BMP-2 بزيادة الـ P21 ويمنع بالتالي تكاثر الخلايا السرطانية الذي يحرضه عامل EGF [32]. و يمتلك بروتين BMP-2 تأثيراً مضاداً لتكاثر الخلايا الورمية بالتراكيز المرتفعة (1 $\mu\text{g/ml}$) مخبرياً [7] و يقوم الـ BMP-2 بتنظيم تعبيرية P21 بواسطة مستقبلات النمط I و بروتينات SMAD1 و SMAD4 (Small Mothers against decapentaplegic) [33].

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات :

تبيّن حسب دراستنا بأنّ تعبيرية بروتين BMP-2 لا تمثّل واسماً انذارياً للدرجة النسيجية في سرطان شائك الخلايا الفموي، و ان هذه التعبيرية لا ترتبط مع الدرجة النسيجية للورم ومع تمايزه النسيجي .

التوصيات :

ضمن حدود بحثنا فإنّه من غير المفيد اعتماد درجة تعبيرية واسم بروتين BMP-2 في تحديد درجة التمايز النسيجي للسرطان الفموي شائك الخلايا. لكن يجب الحذر عند تطبيق البدائل العظمية الحاوية على بروتين BMP-2 عند مرضى السرطان نظراً للتداخل الكبير بين السبل الورمية و سبل تأثير هذا البروتين و الحاجة إلى المزيد من الأبحاث لتحري تأثيره عند هذا النوع من المرضى.

المراجع :

1. CURADO, M.P. ; P. BOYLE, *Epidemiology of head and neck squamous cell carcinoma not related to tobacco or alcohol*. Curr Opin Oncol, 2013. **25**(3): pp. 229-34.
2. THOMPSON, L., *World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours*. Ear Nose Throat J, 2006. **85**(2): pp. 74.
3. PAPATRIANTAFYLLOU, M., *Cell adhesion: regulating RHO at adherens junctions*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012. **13**(8): pp. 481.
4. GUMBINER, B.M., *Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis*. Cell, 1996. **84**(3): pp. 345-57.
5. ZAID, K.W., M. CHANTIRI, ;G. BASSIT, *Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 in Development and Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma*. Asian Pac J Cancer Prev, 2016. **17**(3): pp. 92732.-
6. POYNTON, A.R. ; J.M. LANE, *Safety profile for the clinical use of bone morphogenetic proteins in the spine*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(16 Suppl 1): pp. S40-8.

- .7 SODA, H., et al., *Antiproliferative effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on human tumor colony-forming units*. *Anticancer Drugs*, 1998. **9**(4): pp. 327-31.
- .8 SAITOH, M., et al., *Basolateral BMP signaling in polarized epithelial cells*. *PLoS One*, 2013. **8**(5): pp. e62659.
- .9 KRISHNA, A., et al., *Demographic risk factors affected anatomical sites and clinicopathological profile for oral squamous cell carcinoma in a north Indian population*. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014. **15**(16): pp. 6755-60.
- .10 ZAID, K.W., *Immunohistochemical Assessment of E-cadherin and beta-catenin in the Histological Differentiations of Oral Squamous Cell Carcinoma*. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014. **15**(20): pp. 8847-53.
- .11 SASAKI, T., et al., *Risk factors for cervical lymph node metastasis in superficial head and neck squamous cell carcinoma*. *J Med Dent Sci*, 2015. **62**(1): pp. 19-24.
- .12 BARNES, L., et al., *Pathology and genetics of head and neck tumours*. World Health Organization classification of tumours. 2005, Lyon: IARC. 430 pp. 19-24.
- .13 KIM, M.J., et al., *BMP-2 promotes oral squamous carcinoma cell invasion by inducing CCL5 release*. *PLoS One*, 2014. **9**(10): pp. e108170.
- .14 LANGENFELD, E.M. ; J. LANGENFELD, *Bone morphogenetic protein-2 stimulates angiogenesis in developing tumors*. *Mol Cancer Res*, 2004. **2**(3): pp. 141-9.
- .15 SUZAWA, M., et al., *Extracellular matrix-associated bone morphogenetic proteins are essential for differentiation of murine osteoblastic cells in vitro*. *Endocrinology*, 1999. **140**(5): pp. 2125-33.
- .16 KIM, B.R., et al., *BMP-2 induces motility and invasiveness by promoting colon cancer stemness through STAT3 activation*. *Tumour Biol*, 2015. **65**(1): pp. 19-24.
- .17 LE PAGE, C., et al., *BMP-2 signaling in ovarian cancer and its association with poor prognosis*. *J Ovarian Res*, 2009. **2**: pp. 4.
- .18 MANCINO, M., et al., *Regulation of human Cripto-1 gene expression by TGF-beta 1 and BMP-4 in embryonal and colon cancer cells*. *J Cell Physiol*, 2008. **215**(1): pp. 192-203.
- .19 HU, F., et al., *BMP-6 inhibits cell proliferation by targeting microRNA-192 in breast cancer*. *Biochim Biophys Acta*, 2013. **1832**(12): pp. 2379-90.
- .20 AOKI, M., et al., *Expression of BMP-7 in human gastric cancer and its clinical significance*. *Br J Cancer*, 2011. **104**(4): pp. 714-8.
- .21 WANG, L., et al., *BMP-2 inhibits tumor-initiating ability in human renal cancer stem cells and induces bone formation*. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015. **141**(6): pp. 1013-24.
- .22 TOGO, N., et al., *Prognostic significance of BMP and activin membrane-bound inhibitor in colorectal cancer*. *World J Gastroenterol*, 2008. **14**(31): pp. 4880-8.
- .23 QIU, H., et al., *WSS25 inhibits growth of xenografted hepatocellular cancer cells in nude mice by disrupting angiogenesis via blocking bone morphogenetic protein (BMP)/Smad/Id1 signaling*. *J Biol Chem*, 2010. **285**(42): pp. 32638-46.
- .24 WANG, L., et al., *BMP-2 inhibits the tumorigenicity of cancer stem cells in human osteosarcoma OS99-1 cell line*. *Cancer Biol Ther*, 2011. **11**(5): pp. 457-63.
- .25 FEI, Z.H., et al., *Serum BMP-2 up-regulation as an indicator of poor survival in advanced non-small cell lung cancer patients*. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013. **14**(9): pp. 52939.-

- .26 BIENIASZ, M., et al., *The positive correlation between gene expression of the two angiogenic factors: VEGF and BMP-2 in lung cancer patients*. Lung Cancer, 2009. **66**(3): pp. 319-26.
- .27 FEELEY, B.T., et al., *Overexpression of noggin inhibits BMP-mediated growth of osteolytic prostate cancer lesions*. Bone, 2006. **38**(2): pp. 154-66.
- .28 CLEMENT, J.H., et al., *Bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) induces in vitro invasion and in vivo hormone independent growth of breast carcinoma cells*. Int J Oncol, 2005 : (2)27 .pp. 401-7.
- .29 CHEN, S., et al., *Suppression of tumor necrosis factor-mediated apoptosis by nuclear factor kappaB-independent bone morphogenetic protein/Smad signaling*. J Biol Chem, 2001. **276**(42): pp. 39259-63.
- .30 ARNOLD, S.F., E. TIMS, and B.E. MCGRATH, *Identification of bone morphogenetic proteins and their receptors in human breast cancer cell lines: importance of BMP2*. Cytokine, 1999. **11**(12): pp. 1031-7.
- .31 MONTESANO, R., R. SARKOZI ; H. SCHRAMEK, *Bone morphogenetic protein-4 strongly potentiates growth factor-induced proliferation of mammary epithelial cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2008. **374**(1): pp. 164-8.
- .32 GHOSH-CHOUDHURY, N., et al., *Bone morphogenetic protein-2 blocks MDA MB 231 human breast cancer cell proliferation by inhibiting cyclin-dependent kinase-mediated retinoblastoma protein phosphorylation*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **272**(3): p. 705-11.
- .33 POULIOT, F. ; C. LABRIE, *Role of Smad1 and Smad4 proteins in the induction of p21WAF1, Cip1 during bone morphogenetic protein-induced growth arrest in human breast cancer cells*. J Endocrinol, 2002. **172**(1): pp. 187-98.