



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تقييم الدور المناعي والنسجي الكيميائي في تحديد الخصائص التفريقية لسرطان الخلايا القاعدية في الجلد (غير الميلانيني)

اطروحة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراة
فلسفة في علوم الحياة

من الطالبة

حلا ياسين كاظم فدم

بكالوريوس علوم الحياة / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية / 2002

ماجستير علوم حياة/ حيوان/ كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى / 2015

بإشراف

أ.م.د. علي حافظ عباس

أ.د. ذكرى عطا ابراهيم

Ministry of Higher Education

and Scientific Research

University of Diyala

College of Education for Pure Science

**Evaluation of Immunological and Histochemical Role in
Determination of Differential Characters of Basal
Cell Carcinoma (non melanin)**

A Dissertation Submitted

To the Council of College of Education for Pure Sciences - University of
Diyala in a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Doctorate of Philosophy in Biology

By

Hala Yaseen Kadhim

B.Sc. Biology \College of Science\ University of Mustansiriyah 2002

M.Sc. Zoology\College of Education for Pure Sciences\University Diyala 2015

Supervision by

Professor

Dr. Thekra Atta Ibrahim

Assist. Professor

Dr. Ali Hafidh Abbas

2024 A.D.

1445 A.H.

1- المقدمة :

1-1- سرطان الخلايا القاعدية (Basal Cell Carcinoma(BCC): هو ورم جلدي غير خبيث من اكثر الاورام شيوعاً". يمثل مايقارب 80% من الاروام الجلدية والناشئة في البشرة حيث ينشأ من الطبقة غير المتقرنة للطبقة القاعدية في البشرة ، وسرطان الخلايا القاعدية يعتبر سرطان بطيء النمو وموضعي التشويه (disfigurement) والتدمير (destruction) وخاصة في مناطق الرأس وفروة الشعر (Sikar) وآخرون (Tüzün ; 2011، وآخرون، 2011). ولكنه ينتقل في أقل من 0.1% من الحالات الى باقي الانسجة (Viac، وآخرون، 1997؛ Firnhaber، 2020) .

يظهر سرطان الخلايا القاعدية BCC عادةً كم منطقة مسطحة وثابتة شاحبة صغيرة ومرتفعة ورديّة أو حمراء وشفافة ولامعة وشمعية وقد تنزف المنطقة . هناك العديد من العوامل التي تعد مسببات لإحداث سرطان الخلايا القاعدية (Basal Cell Carcinoma) منها وراثية و، تثبيط مناعي و التعرض المفرط للأشعة الشمس (Robinson ; 2007; Adisen & Gurer، وآخرون، 2013).

في السنوات الاخيرة اظهرت الدراسات زيادة مسجلة في معدلات الإصابة قد يكون هناك عدة عوامل منها زيادة الكشف المبكر عن سرطان الجلد والتوعية في المؤسسات الصحية. وقد تؤثر زيادة طول العمر أيضاً على زيادة حدوث سرطان الخلايا القاعدية (Firnhaber، 2020) . . والاحصائيات الحديثة تؤكد وجود حالات إصابة في الاعمار الشابة لذلك فالكشف المبكر والمعالجة هي نقطة مهمة في هذا النوع من السرطان (Bader، 2011). يعد سرطان الخلايا القاعدية غير مميت والإصابة به تعتبر موضعية وورم غير خبيث (Metastasis) وغير قابلة للانتشار في الجسم الا انه عد مشكلة صحية عامة لكثرة الحالات في السنوات الاخيرة (Lai، وآخرون، 2018).

تختلف نسب الإصابة بين دول العالم فمثلاً" في الولايات المتحدة الامريكية ، ولاية هاواي يكون معدل حدوث سرطان الخلايا القاعدية اكثر بثلاث مرات في الولايات في غرب الولايات المتحدة ، مثل مينيسوتا (Bader، 2011). يظهر سرطان الخلايا القاعدية BCC في جميع أنواع البشرة ، ولكن نادراً ما يتأثر الأشخاص ذوي البشرة الداكنة ، وهو أكثر شيوعاً عند الأشخاص ذوي البشرة الفاتحة (النوع 1 أو النوع 2 من أنواع البشرة). الأشخاص الذين لديهم بشرة من النوع 1 وذوي الشعر الأحمر أو الأشقر ونمش ؛ عند تعرضهم للشمس فأنهم يحترقون دائماً ولا يسمرون أبداً. اما الأشخاص الذين لديهم بشرة من النوع 2 يتمتعون ببشرة فاتحة ويحترقون بسهولة لكنهم قادرين على اكتساب الاسمرار قليلاً". اما معدل الإصابة

بسرطان الخلايا القاعدية منخفض في السود وخاصة الآسيويين والأسبان (ماتشادو وآخرون ، 1996). كما وجد أن ما يقرب من 13 مليون أبيض من غير ذوي الأصول الأسبانية يعيشون في الولايات المتحدة في أوائل عام 2007 مصابون بسرطان جلدي واحد على الأقل غير الميلانيني ((Mosterd وآخرون، 2009) . تعد العوامل الصحية والبيئية والاستعداد الجيني الاسباب الرئيسية للإصابة بمرض سرطان الخلايا القاعدية وإن أهم عامل للإصابة بخطر سرطان الخلايا القاعدية هو التعرض للأشعة فوق البنفسجية (Bauer وآخرون ، 2011).

تحدث جميع انواع سرطانات الخلايا القاعدية تقريبًا في أجزاء الجسم المعرضة بشكل مفرط للشمس وخاصة الوجه والأذنين والرقبة وفروة الرأس والكتفين والظهر. وخاصة العاملون في الهواء الطلق الذين يعملون لسنوات تحت اشعة الشمس مما يجعلهم اكثر عرضة للأشعة فوق البنفسجية مما يزيد خطر الإصابة بسرطان الخلايا القاعدية (Cameron وآخرون , 2019). وهناك عوامل أخرى منها نوع البشرة وخاصة البشرة الفاتحة ، والتقدم بالعمر ، والتاريخ العائلي للإصابة بسرطان الجلد ، والعيون ذات الألوان الفاتحة والشعر الأشقر ، والنمش في مرحلة الطفولة ، والتثبيط المناعي (Lai وآخرون , 2018).

يلعب الجهاز المناعي دورًا مهمًا في كل من ظهور أورام سرطان الخلايا القاعدية وتطورها (Urosevic و Dummer، 2000 ; سرحان ، 2016). في سرطان الخلايا القاعدية ، تتميز الأورام بامتلاكها حدود متقطعة ، تتسلل من خلالها الخلايا اللمفاوية فتحيط بالورم وتخرقه (Kaiser وآخرون ، 2018). في الابحاث السابقة تم دراسة نشوء وحدوث BCC على مدى فترة زمنية طويلة ، بهدف الكشف عن أي تغييرات أو أنماط او عوامل تؤدي الى الإصابة بهذا الورم فبينت المزيد من عوامل الخطر الإضافية التي تتجاوز العمر ، والتعرض للشمس ، والبشرة الفاتحة ، وجنس الذكور لتحديد الأفراد المعرضين لخطر الإصابة بسرطان الخلايا القاعدية (Havnar وآخرون , 2021) . لذلك تمت دراسة دور الجهاز المناعي في ظهور وتطور أورام سرطان الخلايا القاعدية على نطاق واسع ، والتحقيق في مختلف العلامات المناعية وتأثيرها على خصائص الورم. لقد استكشفت الدراسات الأساليب العلاجية المحتملة التي تستهدف الاستجابة المناعية في سرطان الخلايا القاعدية (Lupu وآخرون , 2017). تساهم هذه الدراسات بشكل كبير في فهم شامل لـ BCC وتمهيد الطريق لتحسين استراتيجيات التشخيص (Zhang وآخرون ، 2022) .

إن فهم البيئة المكروبية المناعية ، كما كشفت هذه الدراسات ، يحمل وعدًا بتطوير علاجات أكثر فاعلية قائمة على المناعة ليس فقط من أجل سرطان الخلايا القاعدية ولكن أيضًا للأنواع الأخرى من السرطانات البشرية . سجلت الاورام المزالة من الرأس والرقبة مستويات منخفضة للجينات المعبرة عن CD25 بالمقارنة مع بقية المناطق غير الحاوية على الورم (Glaser وآخرون ، 2011). لذلك اعدت CD25, CD68 مؤشرات للاصابة بسرطان الخلايا القاعدية.

هناك الكثير من الدراسات التي اظهرت ان (الواسم) 68 يزداد في الاشخاص الذين يعانون من الاورام الجلدية Skin Cancer وخاصة سرطان الخلايا القاعدية BCC وسرطان الخلايا الحرشفية SCC. اوضح Sun وآخرون (2016) بتحديد تعبير CD68 البلعمية المرتبطة بالورم (CD68-tumor-associated macrophages (TAMs في سرطان الخلايا الحرشفية حيث اظهرت الدراسة معدل التعبير الإيجابي لـ CD68 في أنسجة البلعوم المصابة بسرطان الخلايا الحرشفية 82 ٪ . في دراسة اخرى اظهر (Zhang وآخرون ، 2022). ان كثافة CD68 في مرضى سرطان الخلايا الحرشفية اكثر من مرضى سرطان الخلايا القاعدية .

و الدراسة الحالية هي الدراسة الوحيدة التي تم قياس تركيز MME Membrane Metalloendopeptidase في سرطان الخلايا القاعدية عادة " يقاس تركيز CD10 للتفريق بين باقي انواع اورام الجلد مثل سرطان الخلايا القاعدية وسرطان الخلايا الحرشفية وغيرها حيث يُظهر تعبير CD10 ارتباطاً بمعدل نمو الخلايا . يزداد تعبيره في الأورام الخبيثة والأنسجة المتجددة . وكذلك يمكن الكشف عن تعبير CD10 في الخلايا اللحمية الشبيهة بالأرومة الليفية حول الورم داخل المنطقة الغازية لأنواع مختلفة من السرطان مثل سرطان البروستاتا والثدي والقولون والمستقيم وسرطان الرئة (Wagoner وآخرون ، 2007).

1-2- أهداف الدراسة الحالية (Aim of the present study):

هدفت الدراسة الحالية الى:

1. التعرف على التغيرات العيانية والنسجية والمناعية التي تحدث نتيجة الإصابة بسرطان الخلايا القاعدية .
2. التعرف على مميزات التركيب الكيمونسجي Histochemical compostion لمرض سرطان الخلايا القاعدية.
3. دراسة تفريقية نسجية بأستخدام الصبغات الكيمونسجية المستخدمة ومدى امكانية استخدامها كأداة تشخيصية للمرض
4. لمعرفة دور الياف الكولاجين في تقدم المرض في مجموعة المصابين بسرطان الخلايا القاعدية وملاحظة الفرق في وجوده في مجموعتي الدراسة .
5. دراسة اهم التغيرات المناعية المصاحبة للإصابة من خلال قياس تركيز عناقيد التمايز وهي CD25,CD68, MME في مصول المرضى المصابين بسرطان الخلايا القاعدية ومقارنتها مع مجموعة السيطرة بأستخدام تقنية ELISA.

Summary

The current study documented that the number of patients with basal cell carcinoma through visual examination, revealing the lesion's locations in: the nose, cheek, and forehead. The study found that the infection rate in males was higher than in females, with 23 males having 69.6% infection, 10 females having 30%. The percentage of healthy 37 males in the control group was 41.8%, and the number of females in the control group was 30, representing 58.2%. The probability level of 0.165 revealed no significant differences.

The study also showed that the average age of the infected group was 66 years, with the percentage of patients aged 60 years being 25%, while the percentage of patients aged 71 was 75%, and the average age of the non-infected group (control) was 59 years, where the percentage of ages 35 was 25%. As for those aged 75 years, it was 75%, and no significant differences appeared at the probability level of 0.096.

The study showed that skin color had an impact on the appearance of the disease. The incidence of basal cell carcinoma increased by 78.7% in people with light skin (white and lighter skin) compared to 21.3% in those with dark skin (dark skin).

The study group's age ranged from 39-83 years and over for those infected, and 21 to 83 years and over for the non-infected group (control). The study revealed that the group restricted to 66-74 had the highest infection rate with basal cell carcinoma at 30.3%, while the confined group (>83), had the lowest infection rate at 3%. The study revealed that during the entire sample collection

period , the consulting clinics and private clinics did not report any infected individuals from age groups 21-29 years and 30-39 years and they included the samples as a group control the number of age groups

The study showed that the average duration of the disease was 3 years, and the percentage of infected people whose period of onset of signs lasted for 2 years was 25%, while those whose period of onset of the disease lasted 4 years was 75%.

This study examined basal cell carcinoma samples from the nose ,cheek and forehead , macroscopic examination . Some samples showed flat, red, scaly papules on the skin, while others formed a transparent, ulcerated mass with uneven edges (rolled border). And pearly (pearl) surrounding a central crater. There are small red blood vessels (telangiectasia) present on the surface of the papule, especially in Nodular Basal Cell Carcinoma. The examination revealed the presence of pigmentation due to the presence of melanin pigment, particularly in Pigmented Basal Cell Carcinoma.

Tissue samples stained with hematoxylin and eosin revealed changes in the epidermis layer of people with basal cell carcinoma . There were nest cell masses of different sizes with pale cytoplasm ,round and oval nuclei with rough chromatin known as hyperchromatic, and the cells of the border and peripheral layer arranged around the nest mass like Palisade fence. Like the pigmented basal cell carcinoma type different parts of the tissue showed melanin pigment .In the other cases , such as the nodular basal cell carcinoma type , the cancer cells arranged themselves into cord . We observed basal cell forming groups or masses in the dermis layer , unconnected to the epidermis layer . there is mucinous degeneration in these clusters , and this type is evident in nodular

BCC . Masses of cancers cells replaced the removed collagen fibers from the dermis layers .

The study also included staining basal cell carcinoma slides with several types of chemical stains, namely Massons Trichrome stain, Periodic Acid-Schiff stain (PAS), Mollary Trichrome stain, and Giemsa stain. These stainings were used to elucidate the components of the affected tissue .highlight the collagen and glycogen fibers, and mark the boundaries and interiors of cancerous cell masses We stained The basal cell carcinoma slides with Massons Trichrome stain, which resulted in blue staining of collagen fibers .The cell masses of basal cell carcinoma Nest red, observing that the cells at the edge of the masses form of a palisade.

Stained tissue section with Periodic Acid-Schiff (PAS) stain. Showed the red colour of the basal cell walls and the basement membrane walls that surrounding the nest cell mass along the presence of collagen fibers, and glycogen within the cells in a mosaic form . When Mollary Stain was used on tissue sections it showed that collagen fibers were blue and basal cell carcinoma cell masses were red . A dditionally Giems staining showed that the nest' basement membrane and cell edegs were visible in blue . on the other hand , the collagen fibers appeared dark pink instead of blue . Mollary trichrome staining revealed blue staining for collagen fibers and red staining for basal cell carcinoma masses .

The concentrations of differentiation clusters showed a difference between people with basal cell carcinoma and those without the disease (control), the average CD25 concentration or level in the people with basal cell carcinoma was 1826.67 pg/ml while the average CD25 concentration in the people who

did not have the disease was 682.22 pg/ml. The majority of the infected group (75%) recorded a high level of 3648.89 pg/ml compared to the non-infected group (control), which recorded 1282.22 pg/ml. The remaining percentage of patients, which was small, 25%, recorded a high level of 493.33pg/ml compared to the non-infected group, which was 148.89 pg/ml. It showed that there were no significant differences between the study samples at the probability level of 0.002

. The study found that the average concentration CD68 in the group of people with basal cell carcinoma was 26.89pg/ml while its average concentration in the control group was 3.42pg/ml, Also 75%, of them had higher concentration (27.85) than the control group , which had 7.17 pg/ml concentraton , Likewise , the remaining percentage ,amounting to 25% recorded an increase. It reached 25.29 pg /ml compared to the control group's concentration was 1.31 pg/ml, and no significant differences appeared at the probability level of $9.27 \times 10^{-}$.

This study also revealed that that the average concentration of MME was 17.23 pg /ml in the people with basal cell carcinoma while it was 1.61 pg/ml in non afflicted group . The majority, 75%, recorded an increase in the concentration of MME, as it was in the group of infected people, where it reached 18.51 pg /ml compared to its concentration in the non-afflicted group. The number of infected people was 6.83 pg/ml .

As it appeared , its concentration in the remaining small percentage of 25% in infected people was 13.44 pg/ml ,wherese in non-infected people its was 0.22 pg/ml . As a result there were no significant differences for the study groups at the probability level of $7 \times 10^{-}$.