

Original Article**Comparative evaluation of glucose transporter 1 expression in oral squamous cell carcinoma with and without cervical lymph node metastasis**Seede Khalesi¹, Laleh Maleki^{2*}, Parnian Mirzaee³¹Dental Materials Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran²Dental Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran³General Doctoral Student, Faculty of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran**ARTICLE INFO****Article History:**

Received: 29 Nov 2023

Accepted: 26 Feb 2024

ePublished: 29 Jan 2025

Keywords:

- Neoplasm
- Metastasis
- GLUT1
- Squamous Cell Carcinoma
- Oral

Abstract

Background. In addition to the local resection of the primary tumor, metastatic oral squamous cell carcinoma (OSCC) patients require neck lymph node resection. In these patients, it is quite difficult to accurately determine whether they have metastases or not, which may lead to excessive medical treatment or insufficient treatment. Therefore, finding molecular markers associated with metastasis with high accuracy and sensitivity is a top priority in OSCC research. Therefore, this study aimed to compare the level of glucose transporter 1 (GLUT1) expression in OSCC with and without metastasis to cervical lymph nodes.

Methods. In this descriptive-analytical cross-sectional study, 20 OSCC samples without cervical lymph node metastasis and 20 OSCC samples with cervical lymph node metastasis from the cases registered in the archives of the Pathology Department of Ayatollah Kashani Hospital, Isfahan, which were prepared by excisional biopsies, were selected for investigation. The samples were stained using the immunohistochemistry method for GLUT1 and then simultaneously examined by two oral pathologists. All data were analyzed by Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests, and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results. The statistical analysis of the obtained data demonstrated that the mean expression of GLUT1 in the studied OSCC tissues had no statistical difference in terms of age, gender, lesion location, disease stage, or histopathological grade ($P < 0.05$). The results revealed that although the level of GLUT1 expression in non-metastatic OSCC was higher than that in OSCC with metastasis to cervical lymph nodes, this difference was not statistically significant ($P = 0.841$).

Conclusion. GLUT1 expression is probably not a predictor of cervical lymph node involvement in OSCC.

Practical Implications. The expression level of GLUT1 is not related to the prognosis of patients with OSCC.

How to cite this article: Khalesi S, Maleki L, Mirzaee P. Comparative evaluation of glucose transporter 1 expression in oral squamous cell carcinoma with and without cervical lymph node metastasis. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2025;47(1): doi: 10.34172/mj.025.33481. Persian.

*Corresponding author; Email: l.maleki@dnt.mui.ac.ir

© 2025 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is the most common type of head and neck SCC, which ranks sixth among cancers worldwide. This lesion accounts for 94% of oral malignancies. It can occur in different anatomical parts of the oral cavity, such as the tongue, oropharynx, lips, and floor of the mouth. Metastatic OSCC patients require neck lymph node resection. In these patients, it is quite difficult to accurately determine whether they have metastases or not, which may lead to excessive medical treatment or insufficient treatment. Therefore, finding molecular markers associated with metastasis with high accuracy and sensitivity is a top priority in OSCC research. Therefore, this study sought to compare the level of glucose transporter 1 (GLUT1) expression in OSCC with and without metastasis to cervical lymph nodes.

Methods

In this cross-sectional descriptive-analytical study, 20 samples of OSCC without metastasis to cervical lymph nodes and 20 samples of OSCC with metastasis to cervical lymph nodes were prepared by the excisional biopsy method, selected, and underwent examination. It should be noted that these samples were obtained from cases registered in the archives of the Pathology Department of Ayatollah Kashani Hospital in Isfahan. To ensure whether lymph nodes are involved or not, all samples were prepared under neck dissection surgery. Samples with incisional biopsy while lacking the necessary clinical information and lacking the proper quality of the block were excluded from the study. Clinical information, including age, gender, location of lesion, grade, and stage of lesions, was extracted from the patients. Then, the slides were stained with hematoxylin-eosin and examined by two oral pathologists simultaneously with a light microscope. Next, the histopathology grade of the tumor was determined based on the Bryne classification. Tissue blocks were examined in terms of tissue quality for immunohistochemical staining, and staining was performed for the GLUT1 marker. The slides were prepared by immunohistochemical staining and then

examined by two pathologists with a light microscope simultaneously and blindly, and the incidence rate (percentage and staining intensity) of the GLUT1 marker was determined as well. Stained cells were randomly counted with a magnification of 400 x 10 microscopic fields. Tissue samples with cytoplasmic, nuclear, or both staining of tumor cells in brown color were considered positive. Stained cells with 40, 100, and 400 magnifications were considered weak, medium, and strong staining. Finally, the staining intensity distribution (SID) index was calculated as the product of abundance in the staining intensity of the cells. Overall, 11 clinical, histopathological information and immunohistochemical staining results were entered into SPSS26 software and then statistically analyzed by preparing frequency distribution tables, the Mann-Whitney test, and the Kruskal-Wallis test. $P > 0.05$ was considered a significant difference.

Results

In the present study, 45% of the samples were male and 55% of the samples were female. Most of the lesions were in the tongue area, and most of them had a good histopathological grade (67.5%) and stage I disease. In addition, 27.5% of the patients were in the age group of 59–70. According to the results of this study, the staining percentage of tumoral cells in both groups of OSCC samples with and without metastasis demonstrated no significant difference ($P=0.774$). Further, the mean staining intensity of these cells was not significantly different in the two investigated groups ($P=0.883$). The average level of GLUT1 expression in OSCC without metastasis to cervical lymph nodes (8.35 ± 4.94) was higher than that in OSCC with metastasis to cervical lymph nodes (7.75 ± 4.88). According to the Mann-Whitney test results, there was no significant difference between the studied groups based on the average SID index for the GLUT1 marker ($P=0.841$). The average level of GLUT1 expression in OSCCs under study showed no significant difference based on the investigated variables ($P < 0.05$). No significant difference was found in the mean expression level of GLUT1 in

OSCC with metastasis to the neck lymph nodes in terms of the intended variables ($P<0.05$). Similarly, the mean expression level of GLUT1 in OSCC without metastasis to cervical lymph nodes revealed no significant difference with regard to the studied variables ($P<0.05$).

Conclusion

Probably, the level of GLUT1 expression is not a predictor of cervical lymph node involvement in

OSCC. However, there are many contradictions regarding the value of GLUT1 for determining and predicting cervical and distant lymph node metastasis, and more studies with a larger sample size are needed to further clarify the issue.

مقایسه میزان بیان GLUT1 در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با و بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی

In Press

سعیده خالصی^۱، لاله ملکی^{۲*}، پرنیا میرزایی^۳

^۱گروه آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
^۲گروه آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت، مرکز تحقیقات ایمپلنت‌های دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
^۳دانشجوی مقطع دکترای عمومی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

زمینه. یافتن نشانگرهای مولکولی مرتبط با متاستاز با دقت و حساسیت بالا اولویت اصلی در پژوهش‌های مرتبط با کارسینوم سلول سنگفرشی دهان است. لذا این مطالعه با هدف بررسی مقایسه‌ای میزان بیان ناقل گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با و بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی انجام شد.
روش کار. در این مطالعه مقطعی که با رویکرد توصیفی-تحلیلی صورت پذیرفت، ۲۰ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بدون درگیری و ۲۰ نمونه با درگیری لنف نودهای گردنی که به روش بیوپسی اکسیژنال تهیه و در بایگانی بخش آسیب‌شناسی بیمارستان آیت الله کاشانی اصفهان ثبت شده بودند، انتخاب شدند. با استفاده از روش ایمنوهیستوشیمی برای نشانگر گلوکز شماره ۱ رنگ‌آمیزی صورت گرفت و توسط دو نفر پاتولوژیست دهان به‌طور همزمان بررسی شدند. اطلاعات حاصل توسط آزمون‌های من‌وتینی و کروسکال-والیس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.
یافته‌ها. نتایج نشان داد که میانگین بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان براساس متغیرهای سن، جنسیت، محل ضایعه، مرحله بیماری و درجه هیستوپاتولوژیک اختلاف معناداری از لحاظ آماری نداشت ($P > 0.05$). همچنین، مطابق با نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، اگرچه میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان غیرمتاستاتیک بیشتر از با متاستاز به لنف نودهای گردنی بود، اما این تفاوت به‌لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P = 0.0841$).
نتیجه‌گیری. احتمالاً میزان بیان گلوکز شماره ۱ پیشگویی‌کننده درگیری گره‌های لنفاوی گردنی در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان نمی‌باشد.
پیامدهای عملی. میزان بیان ناقل گلوکز شماره ۱ با پروگنوز بیماران مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهان ارتباطی ندارد.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۸/۱
پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲
انتشار برخط: ۱۴۰۳/۱۱/۱۰

کلیدواژه‌ها:

- نئوپلاسم
- متاستاز
- گلوکز شماره ۱
- کارسینوم سلول‌های سنگفرشی
- دهان

مقدمه

استعمال دخانیات، مصرف الکل و عفونت ویروس پاپیلوماوی انسانی به عنوان عوامل خطر اصلی آن در نظر گرفته می‌شوند.^۱ میزان بروز سالانه مرگ‌ومیر ناشی از سرطان دهان در کشورهای مختلف تا بیست برابر متفاوت است و میزان حیات پنج ساله ۳۰-۶۲ درصد گزارش شده است. در صورت عدم تشخیص به موقع بدخیمی‌های دهان در مراحل اولیه، این ضایعات گسترش یافته و موجب بدشکلی‌های غیرقابل ترمیم و اختلال در عملکرد عضو، همراه با ایجاد درد و ناراحتی شده و در نهایت به مرگ بیمار می‌انجامد.^{۱،۲}

کارسینوم سلول سنگفرشی دهان شایع‌ترین نوع کارسینوم سلول سنگفرشی سر و گردن است که رتبه ششم را در بین سرطان‌ها در سراسر جهان دارد.^۱ این ضایعه ۹۴ درصد از بدخیمی‌های دهان را تشکیل می‌دهد که می‌تواند در نقاط مختلف آناتومیک حفره دهان مانند زبان، اوروفارنکس، لب، کف دهان، لته، کام سخت و مخاط ناحیه باکال ایجاد شود. شروع و پیشرفت کارسینوم سلول سنگفرشی دهان نتیجه اثر ترکیبی از عوامل مختلف است و

*نویسنده مسؤول؛ ایمیل: l.maleki@dnt.mui.ac.ir

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کربیتو کامنز 4.0 CC BY (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

رشد و متاستاز نقش دارد.^۷ همچنین بیان گلوکز شماره ۱ هم با مقاومت به شیمی درمانی و هم با مقاومت به رادیوتراپی در چندین بدخیمی از جمله در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مرتبط بوده است. به عبارتی، اختلال در تنظیم گلیکولیز منجر به تغییر سیگنال‌های مقاومت دارویی سلولی، تکثیر و متاستاز می‌شود. این ارتباطها ممکن است به دلیل اثرات مکانیسم‌های ترمیم DNA و بیان ژن‌های ضد آپوپتوز و در نتیجه افزایش گلیکولیز باشد. بیان گلوکز بیشتر در سرطان‌های مراحل پیشرفته و درجات تومور بالاتر مشاهده شده است. با وجود تعداد زیادی از مطالعاتی که این خانواده مهم حمل و نقل را در تومورها و ضایعات مختلف بررسی کرده‌اند، اما پژوهش‌های کمی بر روی ارتباط این نشانگر با متاستاز به لنف نودهای گردنی در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان انجام شده است. کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با ویژگی‌های بالینی و بافت‌شناسی منحصر به فرد، میزان عود و بقا متفاوت یک موجودیت متمایز را در بین گروه بزرگ کارسینوم‌های سلول سنگفرشی سر و گردن نشان می‌دهد. در ۳۰ سال گذشته، با وجود پیشرفت در تکنیک‌های تشخیصی و روش‌های درمانی بروز و شیوع کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی به ویژه در افراد جوانتر در حال افزایش است.^{۸،۹} احتمال می‌رود تغییر در بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان می‌تواند رفتار بالینی تومور، میزان تهاجم موضعی، درگیری لنف نودهای گردنی و متاستاز دوردست را پیشگویی کرده و پزشک را در جهت انجام راهکارهای درمانی مناسب-تر به منظور کاهش ایجاد نقص بافتی و افزایش کیفیت زندگی بیمار راهنمایی نماید. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه‌ای میزان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با و بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی انجام شد.

روش کار

در مطالعه مقطعی حاضر که با رویکرد توصیفی-تحلیلی صورت گرفته است، ۲۰ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی و ۲۰ نمونه با متاستاز به لنف نودهای گردنی از موارد ثبت شده در آرشیو بخش آسیب شناسی بیمارستان آیت الله کاشانی اصفهان که به روش اکسیژنال بیوپسی تهیه شده بودند، انتخاب و بررسی شدند. برای اطمینان از درگیر بودن یا نبودن غدد لنفاوی، تمامی نمونه‌ها تحت جراحی دایسکشن گردن تهیه شده بودند. نمونه‌های با بیوپسی اینسیژنال، فاقد اطلاعات بالینی لازم و فاقد کیفیت مناسب بلوک از مطالعه خارج شدند. اطلاعات بالینی شامل سن، جنس، مکان ضایعه، درجه و مرحله ضایعات از پرونده بیماران استخراج گردید. سپس لام‌های هماتوکسیلین -

جراحی رزکسیون یک روش موثر برای درمان کارسینوم سلول سنگفرشی دهان است که می‌تواند میزان بهبودی بیماران را در مراحل اولیه بیماری به بیش از ۸۰ درصد برساند. با این حال، پیش-آگهی کلی بیماران ضعیف بوده و میزان بقای پنج ساله برای آنها هنوز تقریباً ۶۰ درصد باقی‌مانده و در دهه‌های گذشته تغییر چشمگیری نداشته است.^{۳،۴} متاستاز عامل اصلی بقای پایین بیماران کارسینوم سلول سنگفرشی دهان می‌باشد و میزان بقای ۵ ساله بیماران متاستاتیک تنها حدود ۴۰ درصد است.^{۴،۵} در بیماران غیرمتاستاتیک با برداشتن موضعی تومور اولیه می‌توان به یک اثر درمانی ایده‌آل دست یافت؛ در حالی که بیماران متاستاتیک معمولاً نیاز به برداشتن غدد لنفاوی گردن دارند که نه تنها خطر جراحی را افزایش می‌دهد، بلکه اغلب باعث اختلال عملکرد پس از عمل و ناهنجاری‌های فک و صورت می‌شود.^۵ تعیین دقیق اینکه آیا بیماران کارسینوم سلول سنگفرشی دهان قبل از برداشتن موضعی تومور اولیه متاستاز دارند یا خیر، امری کاملاً دشوار است، که این امر ممکن است منجر به درمان بیش از حد پزشکی (انجام جراحی گردن برای بیماران بدون متاستاز غدد لنفاوی) و یا درمان ناکافی (عدم انجام دایسکشن گردن برای بیماران مبتلا به متاستاز به غدد لنفاوی) گردد.^۳ بنابراین، یافتن نشانگرهای مولکولی مرتبط با متاستاز با دقت و حساسیت بالا اولویت اصلی در تحقیقات کارسینوم سلول سنگفرشی دهان است. متاستاز در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان دو مشخصه دارد: (۱) میزان متاستاز در قسمت‌های آناتومیکی مختلف متفاوت است، به طوری که در ناحیه با کال و کام نرم حدود ۴۰ درصد و در زبان و کف دهان بیشتر از ۴۰ درصد است. (۲) متاستاز عمدتاً به صورت متاستاز به گره‌های غدد لنفاوی گردنی ظاهر می‌شود و متاستاز به نواحی دور دست بدن نادر است.^۶ ناقل‌های گلوکز بخشی از خانواده اصلی تسهیل‌کننده‌های حامل املاح هستند که تعداد آنها در انسان بیش از ۴۰۰ است. آنها انتشار یون‌های محلول، مواد مغذی و سایر متابولیت‌ها را در غشای سلولی آبریز تسهیل می‌کنند. خانواده ناقل‌های گلوکز شامل ۱۴ پروتئین غشایی است که توسط ژن‌های SLC2A کدگذاری شده‌اند و عمدتاً برای انتقال گلوکز و سایر مولکول‌های هگزوز مانند فروکتوز شناخته می‌شوند. آنها همچنین اسید اوریک، آسکوربات، گلوکزآمین، میو اینوزیتول و بسیاری از سوبستراهای دیگر را حمل می‌کنند. ناقل‌های گلوکز به طور گسترده‌ای در توزیع بافت، میل ترکیبی بستر و نرخ گردش متفاوت هستند. گلوکز شماره ۱ که گسترده‌ترین ناقل در بین چهارده ناقل-های گلوکز است، به‌عنوان کلید اصلی در گلیکولیز سلول تومور عمل می‌کند.^{۷،۸} مطالعات اخیر گزارش داده‌اند که تغییر در بیان گلوکز شماره ۱ در فرآیندهای بیولوژیکی سلول‌های تومورال از جمله بقا،

۱۰۰، ۴۰۰ به صورت رنگ‌پذیری ضعیف، متوسط و شدید در نظر گرفته شدند. فراوانی سلول‌های اپی‌تلیالی رنگ‌گرفته به صورت زیر محاسبه شد:

+۱: ۱-۲۵ درصد +۲: ۲۶-۵۰ درصد +۳: ۵۱-۷۵ درصد

+۴: بیشتر از ۷۵ درصد

علاوه بر آن، شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها طبق معیارهای زیر محاسبه گردید:

۰: فاقد سلول رنگ‌گرفته +۱: شدت رنگ‌پذیری بسیار اندک

+۲: شدت رنگ‌پذیری متوسط +۳: شدت رنگ‌پذیری متوسط تا زیاد +۴: شدت رنگ‌پذیری شدید

در نهایت شاخص Staining intensity distribution (SID) به صورت حاصل ضرب فراوانی در شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها محاسبه شد.^{۱۱} اطلاعات بالینی، هیستوپاتولوژیک و نتایج رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی وارد نرم‌افزار SPSS26 شده، سپس توسط تهیه جداول توزیع فراوانی، آزمون‌های من-ویتنی و کروسکال-والیس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میزان $P < 0.05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر، ۴۵ درصد از نمونه‌ها از میان مبتلایان مرد و ۵۵ درصد از میان زنان انتخاب شده بودند. اغلب ضایعات در ناحیه زبان و اکثر آنها دارای درجه هیستوپاتولوژیک خوب (۶۷/۵ درصد) و مرحله بیماری I بوده‌اند. همچنین ۲۷/۵ درصد از بیماران در گروه سنی ۵۹ تا ۷۰ قرار داشتند. مطابق با نتایج حاصل از این مطالعه، میزان درصد رنگ‌پذیری سلول‌های تومورال در هر دو گروه نمونه-های کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با و بدون متاستاز تفاوت معناداری از لحاظ آماری نشان نداد ($P=0.774$). همچنین، میانگین شدت رنگ‌پذیری این سلول‌ها نیز در دو گروه مورد بررسی تفاوت معناداری نداشت ($P=0.883$). میانگین میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بدون متاستاز به لطف نودهای گردنی ($4/94 \pm 8/35$) بیشتر از کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با متاستاز به لطف نودهای گردنی ($4/88 \pm 7/75$) بوده است (تصویر ۱، A، B). طبق آزمون من‌ویتنی تفاوت معنادار بین گروه‌های مورد مطالعه براساس میانگین شاخص SID برای نشانگر گلوکز شماره ۱ به دست نیامد ($P=0.841$). همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، میانگین میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان براساس متغیرهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نشان نداده است ($P > 0.05$). مطابق با جدول ۲، میانگین میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با

آنتی‌ژن رنگ‌آمیزی شده و توسط دو نفر پاتولوژیست دهان به طور همزمان با میکروسکوپ نوری (Olympus BX41TF, Tokyo, Japan) مورد بررسی قرار گرفتند. درجه هیستوپاتولوژی تومور براساس طبقه‌بندی Bryne تعیین گردید.^{۱۰} بلوک‌ها از لحاظ کیفیت بافتی جهت انجام رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی بررسی شده و پس از تأیید و انتخاب نمونه‌ها، جهت انجام رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی برای نشانگر گلوکز شماره ۱ (Biocare CM408A, India) مراحل زیر را طی کردند. رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی روی مقاطع بافتی پارافینه شده با ضخامت ۳-۴ μm که روی اسلاید های شیشه‌ای قرار گرفته‌اند انجام شد. مقاطع بافتی دپارافینه و سپس توسط آب مقطر، رهدراته شد. جهت بلاک فعالیت آنزیمی اندوژن مقاطع بافتی به مدت ۳ دقیقه در هیدروژن پراکسید ۳ درصد قرار گرفته و سپس شسته شد. جهت بازیافت آنتی‌ژن از بافر پیشنهاد شده (DAKO USA, Corp, Carpinteria, CA, 0.01M citrate buffer PH=6) استفاده شد. نمونه‌ها در محلول قرار گرفته و حرارت داده شدند و پس از رسیدن به دمای جوش، ۱۰ دقیقه در آن دما گذاشته و بلافاصله نمونه‌ها در آب سرد قرار گرفتند. مقاطع بافتی به مدت ۱ الی ۵ دقیقه در Tris Buffer Saline (TBS) شسته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه پروتئین بلاکینگ شدند. پس از آن نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با آنتی‌بادی اولیه علیه گلوکز شماره ۱ انکوبه شده و سپس به مدت ۲ الی ۵ دقیقه در TBS شسته شدند. در مرحله بعدی، نمونه‌ها با آنتی‌بادی ثانویه مناسب (mouse EnVision System HRP,....) و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و به مدت ۲ تا ۵ دقیقه در TBS شسته شدند. رنگ‌آمیزی نهایی با کروموژن Diaminobenzidine (DAKO) انجام گرفته و سپس شست و شو با آب مقطر و در نهایت رنگ‌آمیزی زمینه با Hematoxylin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) انجام گرفت. پس از آن نمونه‌ها دئیدراته و مانع شدند و با میکروسکوپ نوری مشاهده و بررسی شدند. نمونه‌ای از کارسینوم سلول سنگفرشی پوست و غشای گلوبول قرمز به ترتیب جهت کنترل مثبت خارجی و داخلی انتخاب شدند. یک کنترل منفی که در آن افزودن آنتی‌بادی اولیه حذف شد نیز استفاده گردید. لام‌های تهیه شده با رنگ‌آمیزی ایمنو هیستوشیمی توسط دو نفر پاتولوژیست با میکروسکوپ نوری به طور همزمان و با کورسازی بررسی و میزان بروز (درصد و شدت رنگ‌پذیری) نشانگر گلوکز شماره ۱ تعیین گردید. سلول‌های رنگ‌گرفته با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ در ۱۰ فیلد میکروسکوپی به صورت تصادفی شمارش شدند. نمونه‌های بافتی با رنگ‌آمیزی سیتوپلاسمی، هسته‌ای یا هر دو در سلول‌های توموری به رنگ قهوه‌ای، مثبت در نظر گرفته شد. سلول‌های رنگ‌گرفته با بزرگ‌نمایی ۴۰،

متاستاز به لنف نودهای گردن براساس متغیرهای مورد بررسی تفاوت معناداری نداشت ($P > 0.05$) (تصویر ۱.D.C). همچنین میانگین میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی براساس متغیرهای مورد بررسی تفاوت معنادار نشان نداده است ($P > 0.05$) (جدول ۳) (تصویر ۱).

جدول ۱. میانگین و مقایسه میزان بیان GLUT1 در نمونه های مورد پژوهش براساس متغیرهای مختلف

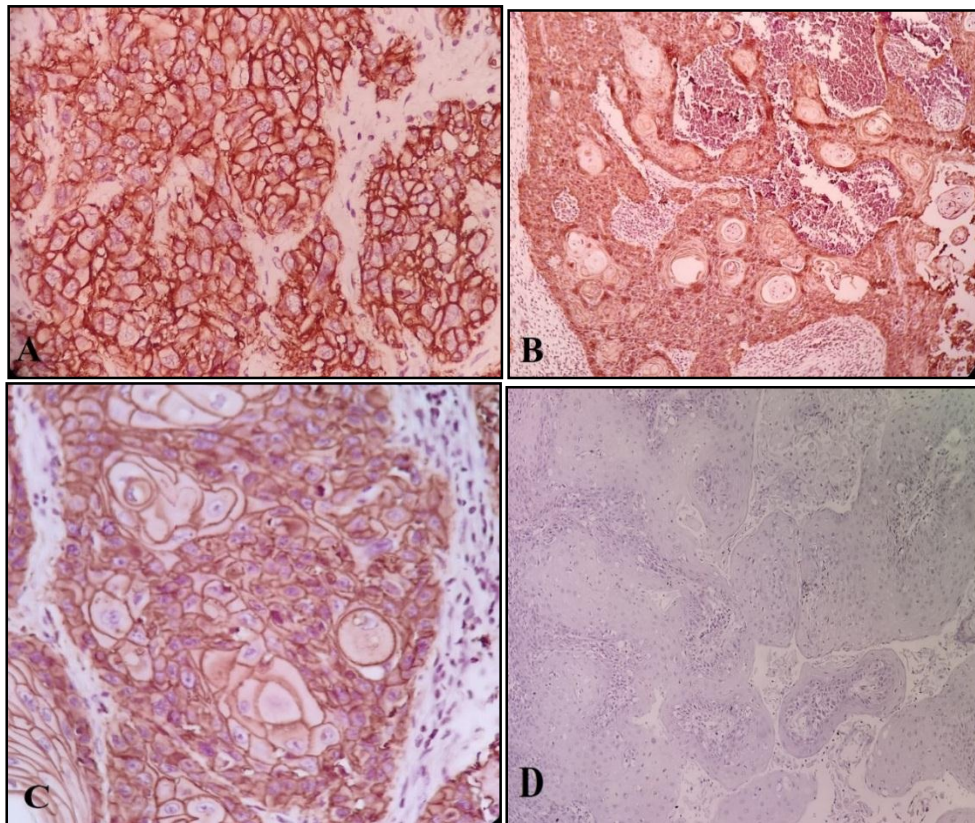
| متغیر | تعداد | مینیمم | ماکزیمم | انحراف معیار \pm میانگین | P |
|---------------------|--------------|--------|--------------|----------------------------|------------------------|
| جنسیت | مرد | ۱ | ۱۶ | $7/89 \pm 4/46$ | مان ویتنی 0/261 |
| | زن | ۲۲ | ۱۶ | $8/18 \pm 5/26$ | |
| مکان ضایعه | زبان | ۰ | ۱۶ | $8/37 \pm 4/87$ | کروسکال-والیس 0/136 |
| | مخاط آلوئولر | ۰ | ۱۲ | $6/11 \pm 4/08$ | |
| | کف دهان | ۱۶ | ۱۶ | 16 ± 0 | |
| درجه هیستوپاتولوژیک | خوب | ۰ | ۱۶ | $7/59 \pm 4/75$ | مان ویتنی 0/393 |
| | متوسط | ۰ | ۱۶ | $8/42 \pm 4/89$ | |
| | ضعیف | ۱۶ | ۱۶ | 16 ± 0 | |
| Stage | I | ۴ | ۱۶ | $7/82 \pm 4/33$ | کروسکال-والیس 0/265 |
| | II | ۱ | ۱۴ | $9/00 \pm 5/81$ | |
| | III | ۰ | ۱۶ | $8/46 \pm 4/77$ | |
| | IV | ۰ | ۱۶ | $6/43 \pm 5/16$ | |
| گروه سنی | ۲۳ - ۳۴ | ۱ | ۱۶ | $10/60 \pm 6/31$ | کروسکال-والیس 0/73 |
| | ۳۵ - ۴۶ | ۴ | ۱۶ | $8/00 \pm 5/42$ | |
| | ۴۷ - ۵۸ | ۰ | ۱۶ | $7/40 \pm 5/42$ | |
| | ۵۹ - ۷۰ | ۴ | ۱۶ | $7/27 \pm 4/00$ | |
| | ۷۱ - ۸۲ | ۶ | ۱۶ | $10/14 \pm 4/56$ | |
| ۸۳ به بالا | ۴ | ۴ | $4/00 \pm 0$ | | |

جدول ۲. میانگین و مقایسه میزان بیان GLUT1 در نمونه های OSCC با متاستاز به لنف نودهای گردنی براساس متغیرهای مختلف

| متغیر | تعداد | مینیمم | ماکزیمم | انحراف معیار \pm میانگین | P |
|---------------------|--------------|--------|-----------|----------------------------|------------------------|
| جنسیت | مرد | ۴ | ۱۶ | $9/33 \pm 4/80$ | مان-ویتنی 0/261 |
| | زن | ۱۱ | ۱۶ | $6/45 \pm 4/76$ | |
| مکان ضایعه | زبان | ۰ | ۱۶ | $8/07 \pm 4/58$ | کروسکال-والیس 0/136 |
| | مخاط آلوئولر | ۰ | ۱۲ | $5/20 \pm 4/38$ | |
| | کف دهان | ۱۶ | ۱۶ | 16 ± 0 | |
| درجه هیستوپاتولوژیک | خوب | ۰ | ۱۶ | $7/38 \pm 4/99$ | مان-ویتنی 0/393 |
| | متوسط | ۰ | ۱۶ | $8/43 \pm 4/96$ | |
| | ضعیف | ۰ | - | - | |
| Stage | I | ۴ | ۴ | $4/00 \pm 0/00$ | کروسکال-والیس 0/265 |
| | II | ۰ | - | - | |
| | III | ۱۲ | ۱۶ | $8/83 \pm 4/78$ | |
| | IV | ۰ | ۱۶ | $6/43 \pm 5/16$ | |
| گروه سنی | ۲۳ - ۳۴ | ۸ | ۱۶ | $13/00 \pm 3/83$ | کروسکال-والیس 0/73 |
| | ۳۵ - ۴۶ | ۴ | ۱۶ | $8/67 \pm 6/43$ | |
| | ۴۷ - ۵۸ | ۰ | ۶ | $3/20 \pm 3/03$ | |
| | ۵۹ - ۷۰ | ۴ | ۱۲ | $8/00 \pm 4/00$ | |
| | ۷۱ - ۸۲ | ۶ | ۱۲ | $8/25 \pm 2/87$ | |
| ۸۳ به بالا | ۴ | ۴ | 0 ± 0 | | |

جدول ۳. میانگین و مقایسه میزان بیان GLUT1 در نمونه های OSCC بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی براساس متغیرهای مختلف

| متغیر | تعداد | مینیمم | ماکزیمم | انحراف معیار ± میانگین | P |
|---------------------|--------------|--------|----------|------------------------|------------------------|
| جنسیت | مرد | ۱ | ۱۲ | ۳/۸۱ ± ۶/۴۴ | مان ویتنی ۰/۱۷۵ |
| | زن | ۴ | ۱۶ | ۵/۳۸ ± ۹/۹۱ | |
| مکان ضایعه | زبان | ۱ | ۱۶ | ۵/۲۴ ± ۸/۶۳ | مان ویتنی ۰/۶۱۷ |
| | مخاط آلوتولر | ۴ | ۱۲ | ۳/۹۵ ± ۷/۲۵ | |
| | کف دهان | ۰ | - | - | |
| درجه هیستوپاتولوژیک | خوب | ۱ | ۱۶ | ۴/۶۹ ± ۷/۷۹ | کروسکال-والیس ۰/۳۶۱ |
| | متوسط | ۴ | ۱۶ | ۵/۳۷ ± ۸/۴۰ | |
| | ضعیف | ۱ | ۱۶ | ۰ ± ۱۶ | |
| Stage | I | ۴ | ۱۶ | ۴/۳۷ ± ۸/۲۰ | کروسکال-والیس ۰/۵۵۵ |
| | II | ۱ | ۱۶ | ۵/۸۱ ± ۹/۰۰ | |
| | III | ۴ | ۴ | ۰ ± ۴/۰۰ | |
| | IV | ۰ | - | - | |
| | | | | | |
| گروه سنی | ۲۳ - ۳۴ | ۱ | ۱ | ۰ ± ۱/۰۰ | کروسکال-والیس ۰/۰۶۸ |
| | ۳۵ - ۴۶ | ۱ | ۶ | ۰ ± ۶/۰۰ | |
| | ۴۷ - ۵۸ | ۵ | ۱۶ | ۳/۵۸ ± ۱۱/۶۰ | |
| | ۵۹ - ۷۰ | ۸ | ۱۶ | ۴/۲۴ ± ۷/۰۰ | |
| | ۷۱ - ۸۲ | ۳ | ۱۶ | ۵/۷۷ ± ۱۲/۶۷ | |
| ۸۳ به بالا | ۲ | ۴ | ۰ ± ۴/۰۰ | | |



تصویر A. رنگ پذیری شدید مارکر GLUT1 در OSCC بدون متاستاز به لنف نودهای گردنی (۴۰۰x). B. رنگ پذیری شدید مارکر GLUT1 در OSCC با درجه بدخیمی خوب (well differentiated) (۱۰۰x). C. رنگ پذیری متوسط مارکر GLUT1 در OSCC با متاستاز به لنف نودهای گردنی (۴۰۰x). D. عدم رنگ پذیری مارکر GLUT1 در OSCC با متاستاز به لنف نودهای گردنی (۱۰۰x)

بحث

مطابق با نتایج حاصل از مطالعات، تشخیص زودهنگام و درمان صحیح سرطان دهان نقش بسیار مهمی در بهبود پیش‌آگهی بیماران دارد. با تشخیص و درمان صحیح سرطان دهان ضمن افزایش طول عمر، کیفیت زندگی بیمار بهتر شده و از ضربه‌های روحی جبران‌ناپذیر به بیمار و تحمیل هزینه‌های بالا به نظام سلامت کشور جلوگیری می‌شود. سطح آگاهی دندانپزشک نسبت به ویژگی‌های کلینیکی و پاتولوژیک سرطان دهان یکی از فاکتورهای بسیار مهم در تشخیص صحیح و به‌موقع آن در مراحل اولیه می‌باشد.^۹ در مطالعه حاضر، اغلب بیماران مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهان در رده سنی ۵۹ تا ۷۰ سال قرار داشتند. با این حال، درگیری گره‌های لنفی گردنی در بیماران با رده‌ی سنی ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری نشان نداد. این نتیجه همسو با مطالعات لی، وانگ و جردیم می‌باشد.^{۱۱-۱۳} در مطالعه نظر و همکاران، میانگین سنی بیماران بدون درگیری لنف نود و با ضایعات اولیه بیشتر از بیماران با درگیری لنف نود بوده است.^{۱۴}

مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در هر دو گروه ضایعات بدون درگیری لنف نود گردنی و ضایعات با درگیری گره‌های لنفی گردنی، ۵۵ درصد نمونه‌ها مربوط به زنان بود که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. در حالی که در مطالعه سورش،^{۱۵} نظر،^{۱۴} لی،^{۱۱} وانگ^{۱۲} و کیکوچی^{۱۶} در هر دو گروه مطالعه مردان بیشتر از زنان درگیر بودند. این احتمال وجود دارد که به دلیل انتخاب تصادفی نمونه‌ها این اختلاف نتایج به‌دست آمده باشد. در مطالعه جردیم نیز تفاوت معنی‌دار بین بیماران با و بدون درگیری لنف نود گردنی براساس جنسیت گزارش نشده است.^{۱۲} تفاوت در مناطق جغرافیائی و اهمیت سبک زندگی در بروز کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و همچنین میزان جمعیت مورد بررسی از دلایل تفاوت در نتایج می‌تواند باشد.

در مطالعه حاضر، زبان شایع‌ترین مکان درگیری بوده است که بین نمونه‌های با و بدون درگیری لنف نودهای گردنی تفاوت معنی‌داری براساس مکان ضایعه به‌دست نیامد. این نتایج با مطالعه سورش^{۱۵}، لی^{۱۱} و کیکوچی^{۱۶} همسو می‌باشد.

متابولیسم گلوکز بسیاری از عملکردها مانند رونویسی، فعالیت آنزیمی، ترشح هورمون و فعالیت نورون‌های تنظیم‌کننده گلوکز را تنظیم می‌کند، زیرا اکسیداسیون گلوکز منبع اصلی انرژی متابولیک در سلول‌های یوکاریوتی است. این عملکردها معمولاً منوط به جذب گلوکز هستند که عمدتاً توسط خانواده ناقل گلوکز کنترل می‌شود. گلوکز شماره ۱، اولین عضو شناسایی‌شده این خانواده می‌باشد که به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است.^۸ گلوکز شماره ۱

در ابتدا به عنوان یک نشانگر همانژیوم پوست نوزاد گزارش شده است. همچنین، در بسیاری از تومورها از جمله کبد، پانکراس، پستان، مری، مغز، کلیه، ریه، پوست، کولورکتال، آندومتر، تخمدان و سرطان دهانه رحم بیش از حد بیان می‌شود. برعکس، تکنیک ایمونوهیستوشیمی نشان داده که گلوکز شماره ۱ در برخی از سرطان‌های انسانی بیان نمی‌شود. علاوه بر این، مثبت بودن گلوکز شماره ۱ در سلول‌های بدخیم که توسط ایمونوهیستوشیمی آشکار شده است، نشان‌دهنده افزایش فعالیت پروليفراتیو، نیاز به انرژی و رفتار تهاجمی است. افزایش مصرف گلوکز به تأمین انرژی لازم برای تکثیر سلول‌های تومور کمک می‌کند و منعکس‌کننده سازگاری با شرایط نامطلوب محیط تومور است. بنابراین، تغییرات متابولیک دارای ارزش پیش‌آگهی و تشخیصی هستند. اگرچه پیامدهای متابولیکی افزایش انتقال گلوکز شناخته نشده است، ظاهراً بیان گلوکز شماره ۱ عملکرد بالینی قابل‌توجهی در چندین نوع تومور دارد.^{۱۷-۱۹}

در مطالعه حاضر، میزان بیان نشانگر گلوکز شماره ۱ برحسب سن، جنسیت، مکان ضایعه، درجه بدخیمی هیستوپاتولوژی تومور و مرحله آن معنی‌دار نبود. برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه درخشان و همکاران که به بررسی گلوکز شماره ۱ و CD105 جهت ارزیابی نقش سلول‌های بنیادی سرطان در آنژیوژنز و پاسخ هیپوکسیک در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان پرداختند، ارتباط معنی‌داری بین بیان همزمان گلوکز شماره ۱ و درجه تومور مشاهده شد.^{۲۰} در مطالعه واسکونسولوس و همکاران نیز میزان بیان گلوکز شماره ۱ با مرحله بالینی و درجه بدخیمی تومور ارتباط معنی‌داری داشت.^{۲۱} در مطالعه هارسانی و همکاران که به بررسی بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان پرداختند، نتایج نشان داد که بیان این نشانگر با مراحل مختلف بالینی و درجات مختلف هیستوپاتولوژیک کارسینوم سلول سنگفرشی دهان معنی‌دار بود. مطابق با نتایج این مطالعه، بیان بالای گلوکز شماره ۱ ممکن است با پیش‌آگهی ضعیف در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مرتبط باشد.^{۱۸}

اگرچه نتایج متفاوت در مطالعات مختلف در خصوص بیان نشانگر گلوکز شماره ۱ گزارش شده است، اما در همگی این مطالعات به افزایش بیان این نشانگر اشاره شده است و بنابراین، می‌تواند به عنوان نشانگر پیشگویی‌کننده کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مورد توجه قرار گیرد.

در مطالعه حاضر میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بدون متاستاز بیشتر از میزان بیان گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با متاستاز بود؛ هرچند که این اختلاف به‌لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در مطالعه دمدا و همکاران

مراحل پیشرفته تومور، درجه تومور بالاتر، اندازه تومور، متاستاز به غدد لنفاوی، مصرف تنباکو و متاستاز دوردست مرتبط است.^{۲۸} در مطالعه شهیدی میانگین سنی بیماران با درگیری لنف نودهای گردنی کمتر از بیماران بدون درگیری این ناحیه گزارش شده است و شیوع غدد لنفاوی متاستاتیک در بیماران بدون درگیری بالینی ۳۰ درصد بود که نشان‌دهنده شناسایی و اهمیت وضعیت غدد لنفاوی در این بیماری می‌باشد.^{۲۹} تفاوت در جامعه آماری و میزان حجم نمونه را می‌توان از دلایل اختلاف در نتایج مطالعات از جمله تفاوت نتایج مطالعه ما با سایر مطالعات دانست. با این وجود، در مورد میزان ارزش گلوکز شماره ۱ برای تعیین و پیشگویی متاستاز گره‌های لنفی گردنی و دور دست تناقضات بسیاری وجود دارد و برای روشن شدن بیشتر موضوع نیاز به مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالاتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

احتمالا میزان بیان گلوکز شماره ۱ پیشگویی‌کننده درگیری گره‌های لنفاوی گردنی در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان نمی‌باشد. پیشنهاد می‌شود مطالعات مشابه با حجم نمونه بیشتر به ویژه برای درجات بدخیمی بالاتر OSCC انجام شود.

قدردانی

مؤلفان این مقاله از تمام افرادی که در این پژوهش ما را یاری کردند از جمله سرکار خانم مریم شمس مسئول آزمایشگاه بخش آسیب‌شناسی دهان دانشکده دندانپزشکی اصفهان تشکر و قدردانی می‌کنند.

مشارکت پدیدآوران

مطالعه حاضر از پروژه تحقیقاتی خانم پرنیا میرزائی با راهنمایی سرکار خانم دکتر سعیده خالصی و سرکار خانم دکتر لاله ملکی اقتباس شده است. دکتر سعیده خالصی و دکتر لاله ملکی به‌عنوان اساتید راهنما در ایده پردازی اولیه، طراحی اثر، جمع‌آوری نمونه و داده‌ها، تحلیل داده‌ها و تهیه پیش‌نویس مقاله مشارکت داشته‌اند. همچنین، دکتر پرنیا میرزائی در جمع‌آوری داده‌ها، تهیه پیش‌نویس و بررسی آن مشارکت داشتند. تمامی نویسندگان نسخه نهایی را مطالعه و تأیید کرده‌اند و در مورد بخش‌های مختلف آن هیچ اختلافی ندارند.

منابع مالی

تمام هزینه مالی این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شده است.

نیز که با هدف بررسی بیان گلوکز شماره ۱ و گلوکز شماره ۳ در کارسینوم سلول سنگفرشی لب تحتانی متاستاتیک و غیر متاستاتیک انجام شده بود، نتایج نشان داد که بیان آن در تومورهای متاستاتیک و غیرمتاستاتیک بالا بوده، ولی با این حال تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشده است.^{۲۲} همچنین، در مطالعه اکرت و همکاران که به بررسی بیان گلوکز شماره ۱ در ۴۲ بیمار مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به روش ایمونوهیستوشیمی پرداخته‌اند، نتایج نشان داده است که بیان گلوکز شماره ۱ با درجه تومور، مرحله تومور و متاستاز به غدد لنفاوی ارتباط معنی‌داری نداشت.^{۳۳} در یک مطالعه مروری نظام‌مند که اخیرا با هدف ارزیابی بیان گلوکز شماره ۱ بین کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و کراتینوسیت‌های دهانی طبیعی و همچنین نقش آنها در پاتوفیزیولوژی و پیش‌آگهی کارسینوم سلول سنگفرشی دهان انجام شده است، نتایج نشان داد که گلوکز شماره ۱ به‌طور منظم در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بیان می‌شود. اگرچه نتایج نشان داد بیان بالای گلوکز شماره ۱ با مرحله تومور، مقاومت به درمان و پیش‌آگهی ضعیف مرتبط است، اما هیچ ارتباط واضحی بین بیان گلوکز شماره ۱ و درجه تومور، متاستاز، و جذب فلوروداکسی گلوکز یافت نشده است.^۸ در مطالعه پاتولولا و همکاران نیز گزارش شده که افزایش بیان گلوکز شماره ۱ نقش ثابتی در میزان تهاجم کارسینوم سلول سنگفرشی دهان دارد.^{۲۴} در مطالعه الیور و همکاران، که به بررسی ۵۴ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان پرداخته، ارتباط آماری معنی‌داری بین بیان گلوکز شماره ۱ و متاستاز به نواحی مجاور گزارش شده است.^{۲۵} در مطالعه آیالا و همکاران در برزیل که به بررسی ارتباط بین ویژگی‌های کلینیکوپاتولوژیک ۱۴۲ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان با الگوی بیان گلوکز شماره ۱ و گلوکز شماره ۳ پرداخته‌اند، نتایج نشان داده که الگوی بیان گلوکز شماره ۱ با مرحله پیشرفته تومور و متاستاز به لنف نودهای گردنی مرتبط است.^{۲۶} در مطالعه اهما و همکاران نیز گزارش شده که گلوکز شماره ۱ به‌عنوان نشانگری عمل می‌کند که نشان می‌دهد تومورهای با تهاجم عمیق به دلیل متاستاز به غدد لنفاوی، عود ضایعه اولیه یا متاستاز دوردست، به پیش‌آگهی بدتری در بیماران منجر می‌شوند.^{۱۹} در مطالعه آزاد و همکاران که با هدف بررسی میزان بیان پروتئین گلوکز شماره ۱ در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان در سیگاری‌ها و غیرسیگاری‌ها و ارتباط بیان آن با درجه‌بندی هیستوپاتولوژیک و مرحله‌بندی پاتولوژیک انجام شده است، نتایج ارتباط معنی‌داری برای بیان گلوکز شماره ۱ با متاستاز به گره‌های لنفی با متغیرهای مورد بررسی نشان داد.^{۲۷} در یک مطالعه متاآنالیز انجام شده توسط لی و همکاران، داده‌های تلفیقی نشان داد که بیان گلوکز شماره ۱ بالا با

دسترس پذیری داده‌ها

کلیه داده‌های به‌دست آمده در این مقاله گنجانده شده است.

ملاحظات اخلاقی

نمونه‌های بافتی مورد پژوهش در این مطالعه از میان نمونه‌های به‌دست آمده از بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان آیت الله کاشانی اصفهان پس از دریافت کد اخلاق IR.MUI.RESEARCH.REC.1402.052 جمع‌آوری شد.

تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه اعلام می‌کنند که این اثر حاصل یک پژوهش مستقل بوده و هیچ تضاد منافی با سازمان‌ها و اشخاص دیگر ندارد.

References

1. Ketabat F, Pundir M, Mohabatpour F, Lobanova L, Koutsopoulos S, Hadjiiski L, et al. Controlled Drug Delivery Systems for Oral Cancer Treatment-Current Status and Future Perspectives. *Pharmaceutics*. 2019;11(7):302. doi: 10.3390/pharmaceutics11070302.
2. Xu Y, Jiang E, Shao Z, Shang Z. Long Noncoding RNAs in the Metastasis of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front Oncol*. 2021;10:616717. doi: 10.3389/fonc.2020.616717.
3. Alves AM, Diel LF, Lamers ML. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(5):460-7. doi: 10.1111/jop.12643.
4. Zanoni DK, Montero PH, Migliacci JC, Shah JP, Wong RJ, Ganly I, et al. Survival outcomes after treatment of cancer of the oral cavity (1985-2015). *Oral Oncol*. 2019;90:115-21. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.02.001.
5. Romer CAE, Broglie Daepfen MA, Mueller M, Huber GF, Guesewell S, Stoekli SJ. Long-term speech and swallowing function after primary resection and sentinel node biopsy for early oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2019;89:127-32. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.12.027.
6. Moratin J, Metzger K, Kansy K, Ristow O, Engel M, Hoffmann J, et al. The prognostic significance of the lymph node ratio in oral cancer differs for anatomical subsites. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2020;49(5):558-63. doi: 10.1016/j.ijom.2019.10.015.
7. Botha H, Farah CS, Koo K, Cirillo N, McCullough M, Paolini R, et al. The Role of Glucose Transporters in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Biomolecules*. 2021;11(8):1070. doi: 10.3390/biom11081070.
8. Na S, Zhang J, Zhou X, Tang A, Huang D, Xu Q, et al. Plumbagin-mediated GLUT1 suppresses the growth of human tongue squamous cell carcinoma. *Oral Dis*. 2018;24(6):920-9. doi: 10.1111/odi.12799.
9. Capote-Moreno A, Brabyn P, Muñoz-Guerra MF, Sastre-Pérez J, Escorial-Hernandez V, Rodríguez-Campo FJ, et al. Oral squamous cell carcinoma: epidemiological study and risk factor assessment based on a 39-year series. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2020;49(12):1525-34. doi: 10.1016/j.ijom.2020.03.009.
10. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Kjaerheim A. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. *J Pathol*. 1992;166(4):375-81. doi: 10.1002/path.1711660409.
11. Li Y, Liu K, Ke Y, Zeng Y, Chen M, Li W, et al. Risk Factors Analysis of Pathologically Confirmed Cervical Lymph Nodes Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma Patients with Clinically Negative Cervical Lymph Node: Results from a Cancer Center of Central China. *J Cancer*. 2019;10(13):3062-9. doi: 10.7150/jca.30502.
12. Wang S, Li T, Liu H, Wei W, Yang Y, Wang C, et al. A Combined Prediction Model for Lymph Node Metastasis Based on a Molecular Panel and Clinicopathological Factors in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front Oncol*. 2021;11:660615. doi: 10.3389/fonc.2021.660615.
13. Jardim JF, Francisco AL, Gondak R, Damascena A, Kowalski LP. Prognostic impact of perineural invasion and lymphovascular invasion in advanced stage oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(1):23-8. doi: 10.1016/j.ijom.2014.10.006.
14. Nazar M, Naz I, Mahmood MK, Hashmi SN. Immunohistochemical Expression of Cyclin D1 and Ki-67 in Primary and Metastatic Oral Squamous Cell Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020;21(1):37-41. doi: 10.31557/APJCP.2020.21.1.37.
15. Suresh TN, Hemalatha A, Harendra Kumar ML, Azeem Mohiyuddin SM. Evaluation of histomorphological and immunohistochemical parameters as biomarkers of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of oral cavity: A retrospective study. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2015;19(1):18-24. doi: 10.4103/0973-029X.157195.

16. Kikuchi M, Harada H, Asato R, Hamaguchi K, Tamaki H, Mizuta M, et al. Lingual Lymph Node Metastases as a Prognostic Factor in Oral Squamous Cell Carcinoma- A Retrospective Multicenter Study. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(4):374. doi: 10.3390/medicina57040374.
17. Jardim JF, Francisco AL, Gondak R, Damascena A, Kowalski LP. Prognostic impact of perineural invasion and lymphovascular invasion in advanced stage oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015;44(1):23-8. doi: 10.1016/j.ijom.2014.10.006.
18. Harshani JM, Yeluri S, Guttikonda VR. Glut-1 as a prognostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2014;18(3):372-8. doi: 10.4103/0973-029X.151318.
19. Ohba S, Fujii H, Ito S, Fujimaki M, Matsumoto F, Furukawa M, et al. Overexpression of GLUT-1 in the invasion front is associated with depth of oral squamous cell carcinoma and prognosis. *J Oral Pathol Med*. 2010;39(1):74-8. doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00814.x.
20. Derakhshan S, Mahdavi N, Kardouni Khoozestani N, Nasr Esfahani B, Heidarian F, Rahrotaban S, et al. Assessment of the association of OCT3/4 with GLUT1 and CD105 in oral squamous cell carcinoma using dual immunohistochemistry. *BMC Oral Health*. 2022;22(1):300. doi: 10.1186/s12903-022-02332-w.
21. Vasconcelos MG, Vasconcelos RG, Pereira de Oliveira DH, de Moura Santos E, Pinto LP, da Silveira ÉJ, et al. Distribution of Hypoxia-Inducible Factor-1 α and Glucose Transporter-1 in Human Tongue Cancers. *J Oral Maxillofacial Surg*. 2015;73(9):1753-60. doi: 10.1016/j.joms.2015.03.013.
22. Demeda CF, Carvalho CH, Aquino AR, Nonaka CF, Souza LB, Pinto LP. Expression of glucose transporters 1 and 3 in metastatic and non-metastatic lower lip squamous cell carcinoma. *Braz Dent J*. 2014;25(5):372-8. doi: 10.1590/0103-6440201300054.
23. Eckert AW, Lautner MH, Taubert H, Schubert J, Bilkenroth U. Expression of Glut-1 is a prognostic marker for oral squamous cell carcinoma patients. *Oncol Rep*. 2008;20(6):1381-5. doi: 10.3892/or_00000156
24. Patlolla P, N Shyam NDV, Kumar GK, Narayen V, Konda P, Mudududla P. Evaluation of glucose transporter-1 expression in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2020;24(3):578. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_314_19.
25. Oliver RJ, Woodward RT, Sloan P, Thakker NS, Stratford IJ, Airley RE. Prognostic value of facilitative glucose transporter Glut-1 in oral squamous cell carcinomas treated by surgical resection; results of EORTC Translational Research Fund studies. *Eur J Cancer*. 2004;40(4):503-7. doi: 10.1016/j.ejca.2003.10.024.
26. Ayala FR, Rocha RM, Carvalho KC, Carvalho AL, da Cunha IW, Lourenço SV, et al. GLUT1 and GLUT3 as potential prognostic markers for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Molecules*. 2010;15(4):2374-87. doi: 10.3390/molecules15042374.
27. Azad N, Kumari Maurya M, Kar M, Goel MM, Singh AK, Sagar M, et al. Expression of GLUT-1 in oral squamous cell carcinoma in tobacco and non-tobacco users. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2016;6(1):24-30. doi: 10.1016/j.jobcr.2015.12.006.
28. Li CX, Sun JL, Gong ZC, Lin ZQ, Liu H. Prognostic value of GLUT-1 expression in oral squamous cell carcinoma: A prisma-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(45):e5324. doi: 10.1097/MD.0000000000005324.
29. Shahidi N, Zokaei N. Study of microscopic neck metastasis in clinically N0 neck in oral squamous cell carcinoma]. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2021;43(3):293-9. doi: 10.34172/mj.2021.056