



الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية طب الأسنان
قسم النسيج والتشريح المرضي الفموي

دراسة فعالية الأميجدالين كعلاج داعم في السرطان شائك الخلايا للرأس والعنق

Efficacy of Amygdalin as a Supportive Therapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma

ببحث أعد لنيل درجة الدكتوراه في اختصاص النسيج والتشريح المرضي للفم والأسنان

إعداد الباحثة أميرة حسين النور

إشراف الأستاذ الدكتور أحمد المنديلي

نقيب المعلمين

أستاذ في قسم النسيج والتشريح المرضي

جامعة دمشق - كلية طب الأسنان

قرار لجنة الحكم

الإهداء

إلى من أحبوا وتعبوا لأكبر.....

والديّ

إلى الكرماء، إلى الطيبين.....

أخواتي وأخي

إلى من كانت معي بداية الدرب وستبقى.....درب الصداقة والمحبة
الصادقة

ويا سمين لا ينتهي يا دمشق.....

ابنتكم اميره

2016

الشكر

أتقدم بداية بالشكر الجزيل لكلية طب الأسنان متمثلة بعمادتها الأستاذ الدكتور محمد سالم الركاب والوكيل الإداري الأستاذ الدكتور إياد الحفار والوكيل العلمي الأستاذ الدكتور عمار مشلح، لما يقدموه من دعم دائم لمسيرة البحث العلمي في كلية طب الأسنان-جامعة دمشق

جزيل الشكر والامتنان للأستاذ الدكتور أحمد المنديلي، الذي تفضل بقبولي طالبة في مرحلتي الماجستير والدكتوراه، تعلمت فيها الكثير من علمه وحكمته... أشكر له صبره على عثرتي وزرعه في قلوبنا حب العلم والإخلاص له.

الشكر موصولاً للأستاذ الدكتور محمد إياد الشطي، الذي تفضل مشكوراً بتقييم هذا البحث... أشكره أستاذاً ومربياً ومعلماً ودافعاً لنا للسعي أبداً إلى العلم والصدق بإعطائه ونقله.

والشكر الجزيل للأستاذ الدكتور زيد العساف الذي تفضل مشكوراً بتقييم هذا البحث... والذي وجهت نصائحه بداية خطوات هذا البحث فله مني جزيل الشكر.

الشكر الجزيل للأستاذ الدكتور محمود عبد الحق، الذي تفضل مشكوراً بتقييم هذا البحث وكان له الفضل في تدريسنا في سني دراستنا الأولى... فله منا جزيل الشكر.

الشكر الجزيل للأستاذ الدكتور شريف بركات الذي تفضل مشكوراً بتقييم هذا البحث... والذي لا يخل بنصحه ورعايته لطلاب الدراسات العليا، فله مني جزيل الشكر والامتنان.

كما لا أنسى فضل الأستاذة الدكتورة استير جوري التي رافقتني مشرفاً مشاركاً في مرحلة الماجستير لم تبخل عليّ فيها من علمها وخبرتها... واستمر دعمها العلمي لي رغم السفر والاعتراب، لها مني الشكر والعرفان بالجميل.

كما أتقدم بجزيل الشكر إلى أساتذتي في قسم التشريح المرضي الفموي، الذين كانت مسيرتهم ونصائحهم هدياً لنا في سنوات دراستنا، الأستاذ الدكتور نبيل قوشجي والأستاذ الدكتور ممدوح المحارب.

الشكر الجزيل للعلم ناصر كتابي، المخبري في قسم التشريح المرضي الفموي... لمساعدته لي في إتمام الجزء المخبري من هذا البحث له مني جزيل الشكر والاحترام.

والشكر موصولاً لزملائي في قسم التشريح المرضي لفموي، كان وجودهم وعملهم وأبحاثهم دافعاً لي للمضي قدماً في عملي... أحص بالشكر الزميل الدكتور أنس رباطة الذي قدم لي النصح وشاركني من خبرته لإتمام هذا البحث.

كما أشكر الإحصائي الأستاذ محمد نجيب الذي أعانني في إتمام الجزء الإحصائي الخاص بالبحث... أشكر له صبره وجهده.

ختاماً... الشكر الجزيل لصديقي الدكتور أنس عبده... الذي ساعدني ودعمني في كل خطوة ومرحلة في هذا الدرب، وما زال... له مني عميق الشكر والامتنان.

قائمة المحتويات

16	المقدمة:
18	هدف البحث:
20	المراجعة النظرية:
20	دورة حياة الخلية:
27	السرطان:
27	تعريف:
28	الأسس الجزيئية للسرطان:
36	المناعة والسرطان:
38	التغيرات المرضية في المخاطية الفموية:
38	الاضطرابات التي تحمل إمكانية التحول الخبيث: Potential Malignant Disorders (PMD)
39	1. الطلاوة البيضاء:
41	2. الطلاوة الحمراء:
42	3. آفات الحنك الناتجة عن التدخين بالطريق المعكوس:
42	4. الحزاز المنبسط:
43	5. التليف تحت المخاطي الفموي:
43	6. بعض الاضطرابات الوراثية:
44	تدبير الاضطرابات التي تحمل إمكانية التحول الخبيث:
44	الخزعة والتشخيص المرضي النسيجي: (Histopathologic Diagnosis):
45	السرطانات البشروية في الحفرة الفموية:
46	السرطان شائك الخلايا الفموي:
47	تصنيف السرطان شائك الخلايا:
49	علاج السرطان شائك الخلايا:
51	الطب المكمل والطب البديل:
53	الأميجدالين:
54	تعريفه:
54	الخواص الكيميائية والفيزيائية:
58	خواص السيانيد:
59	طرق استخلاص الأميجدالين:
60	لمحة تاريخية حول الأميجدالين:
61	النظريات التي تفسر فعالية الأميجدالين:
65	استخداماته في الأدب الطبي:
67	دراسة أثر الأميجدالين على حيوانات التجربة:
69	الأميجدالين والدراسات عند الإنسان:
72	استخدامه كعلاج للسرطان:
83	المواد والطرق:
83	تصميم الدراسة: Study Design
85	الفترة الزمنية للدراسة:
86	حساب حجم العينة:
86	مرافق الدراسة:
86	اختيار العينة:
86	المادة المسرطنة:

88	المادة العلاجية (الأميجدالين):
91	الملونات المناعية المستخدمة:
91	1. الملون P53:
91	2. الملون BCL2:
92	المواد والأجهزة المستخدمة:
93	طريقة العمل:
94	التجربة الأولى:
94	التجربة الثانية:
96	التجربة الثالثة:
96	التجربة الرابعة:
97	مراحل تحضير الخزعات النسيجية:
98	مراحل تلوين الخزعات بالتلوين التقليدي (الهيماتوكسيلين-إيوزين):
99	دراسة العينات النسيجية المعدة بالتلوين التقليدي:
99	دراسة مقاطع التجربة الأولى الملونة بالتلوين التقليدي:
100	دراسة مقاطع التجربة الثانية الملونة بالتلوين التقليدي:
100	دراسة مقاطع التجربة الثالثة الملونة بالتلوين التقليدي:
101	دراسة مقاطع التجربة الرابعة الملونة بالتلوين التقليدي:
101	مراحل تلوين الخزعات بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للملون P53 (IHC):
104	مراحل تلوين الخزعات بالتلوين الكيميائي المناعي النسيجي للملون BCL2:
105	مراحل تلوين الخزعات بالتلوين الكيميائي المناعي النسيجي للملون β -catenin:
106	دراسة العينات النسيجية التي حصلنا عليها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للتجربة الثانية:
107	دراسة العينات النسيجية التي حصلنا عليها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للتجربة الثالثة:
108	دراسة العينات النسيجية التي حصلنا عليها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للتجربة الرابعة:
110	النتائج:
187	المناقشة:
189	مناقشة نتائج الفعالية العلاجية للأميجدالين:
191	مناقشة نتائج الملون المناعي الـ BCL-2:
193	مناقشة نتائج الملون المناعي الـ β -catenin:
194	مناقشة نتائج الملون المناعي الـ P53:
195	مناقشة الأثر الوقائي للأميجدالين عبر التطبيق الفموي:
197	مناقشة أثر الأميجدالين على القلب والرتنين:
200	الاستنتاجات:
202	التوصيات والمقترحات:
204	الخاتمة
221	ملحق صور البحث

قائمة بالجداول المدرجة ضمن البحث:

48	الجدول 1 تصنيف Anneroth للسرطان شائك الخلايا الفموي
49	الجدول 2 يوضح الدرجات النسيجية حسب مجموع النقاط
106	الجدول 3: نتائج التعبيرية الايجابية للملونات المناعية للعينة الثانية
107	الجدول 4: نتائج التعبيرية الايجابية للملونات المناعية للعينة الثالثة
108	الجدول 5: نتائج التعبيرية الايجابية للملونات المناعية في التجربة الرابعة
111	الجدول 6: يبين توزيع عينة البحث وفقاً للعينة الفرعية المدروسة
112	الجدول 7: يبين توزيع عينة البحث وفقاً للمادة المستخدمة
113	الجدول 8: يبين توزيع عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة
114	الجدول 9: يبين توزيع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة
115	الجدول 10: يبين توزيع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة
الجدول 11:	يبين نتائج الاستقصاء عن حالة الرئة في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة
116	الجدول 12 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة
118	الجدول 13 يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الرئة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضطرب بها بعد خمسة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضطرب بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة أثر الأميجدالين المستورد في القلب والرئة
120	الجدول 14 يبين نتائج الاستقصاء عن حالة القلب في عينة دراسة أثر الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة
121	الجدول 15 يبين الدرجات المعتمدة لخطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد والقيمة الموافقة المعطاة لكل درجة
122	الجدول 16 يبين نتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
123	الجدول 17 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة الفروق بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
124	الجدول 18 يبين نتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
125	الجدول 19 يبين نتائج الاستقصاء عن تكرارات تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
126	الجدول 20 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الحالات السلبية والحالات الإيجابية في تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
128	الجدول 21 يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة
129	الجدول 22 يبين نتائج اختبار تي ستودنت للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين القيمية المعيارية (الصفير) وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
130	الجدول 23 يبين الدرجات المعتمدة لخطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين والقيمة الموافقة المعطاة لكل درجة
132	

الجدول 24	يبين نتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	133
الجدول 25	يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	135
الجدول 26	يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة	138
الجدول 27	يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة البشرة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين	141
الجدول 28	يبين نتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	143
الجدول 29	يبين متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	145
الجدول 30	يبين نتائج اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة	146
الجدول 31	يبين نتائج اختبار Mnn-Whitney لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة	147
الجدول 32	يبين متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة	149
الجدول 33	يبين نتائج اختبار Mann-Whitney لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة	150
الجدول 34	يبين نتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	153
الجدول 35	يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الايجابية في تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin على حدة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	158
الجدول 36	يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة الفروق الثنائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة	162
الجدول 37	يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة الفروق في تكرار تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة	165
الجدول 38	يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	168
الجدول 39	يبين نتائج اختبار T-ستيوذنت للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين القيمة المعيارية (الصفر) وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة	172
الجدول 40	يبين نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة الفروق في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة على حدة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالي	175
الجدول 41	يبين نتائج المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في بعض مجموعات المادة المستخدمة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين	177

الجدول 42 يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة.....180

الجدول 43 يبين نتائج اختبار T ستينودنت للعينات المستقلة لدراسة الفروق في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة.....186

قائمة بالمخططات المدرجة ضمن البحث :

- مخطط رقم 1 يمثل النسبة المئوية لتوزيع عينة البحث وفقاً للعينة الفرعية المدروسة..... 111
- مخطط رقم 2 يمثل النسب المئوية لتوزيع عينة البحث وفقاً للمادة المستخدمة..... 112
- مخطط رقم 3 يمثل النسبة المئوية لتوزيع عينة دراسة الأُميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة 113
- مخطط رقم 4 يمثل النسبة المئوية لتوزيع عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة..... 114
- مخطط رقم 5 يمثل النسبة المئوية لتوزيع عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 115
- مخطط رقم 6 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن حالة الرئة في عينة دراسة تأثير الأُميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة..... 117
- مخطط رقم 7 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأُميجدالين المستورد 123
- مخطط رقم 8 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأُميجدالين المستورد..... 125
- مخطط رقم 9 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين BCL 2 في عينة دراسة الأثر الوقائي للأُميجدالين المستورد..... 126
- مخطط رقم 10 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين P 53 في عينة دراسة الأثر الوقائي للأُميجدالين المستورد..... 127
- مخطط رقم 11 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 134
- مخطط رقم 12 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 144
- مخطط رقم 13 يمثل متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 145
- مخطط رقم 14 يمثل متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة و الفترة الزمنية المدروسة..... 149
- مخطط رقم 15 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين-2BCL في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 155
- مخطط رقم 16 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين P 53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 155
- مخطط رقم 17 يمثل النسب المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 156
- مخطط رقم 18 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 169
- مخطط رقم 19 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية إيجابية تعبيرية البروتين p53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 169
- مخطط رقم 20 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة..... 170
- مخطط رقم 21 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة و الفترة الزمنية المدروسة..... 181
- مخطط رقم 22 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين p53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة و الفترة الزمنية المدروسة..... 181

مخطط رقم 23 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر العلاجي
للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة 182

- الشكل 1-1 يوضح مراحل الدورة الخلوية (Kumar et al., 2013) 21
- الشكل (1-2) يوضح مراحل تشكل السرطان في الجلد عند الفئران (Abel et al., 2009) 34
- الشكل (1-3) يوضح المراحل النسيجية لتشكل السرطان بدءاً من المرحلة الطبيعية مروراً بمرحلة فرط التصنع فتشكل الورم الحليمي وأخيراً نشوء السرطان شائع الخلايا (Abel et al., 2009) 34
- الشكل 1-4 صورة سريرية توضح الإصابة بالطلاوة البيضاء في باطن الخد (Gurudath et al., 2012) 41
- الشكل 1-5 صورة سريرية للإصابة بالطلاوة الحمراء في قبة الحنك 42
- الشكل 1-6 صورة سريرية للحزاز المنبسط القموي-النمط الشبكي 43
- الشكل (1-7) الأميدالين R (C2--H27-N-O11) 56
- الشكل (1-8) Iso-amygdaline 56
- الشكل (1-9) يوضح تفكك الأميدالين إلى المكونات الأساسية المكونة له 57
- الشكل 10-2 الشكل التجاري لمادة الـ DMBA المسرطنة 87
- الشكل 11-2 من مراحل تحضير الأميدالين مخبرياً 89
- الشكل (12-2) الملون المناعي BCL-2 و beta-catanin من شركة Bio-SB الأميركية والملون المناعي P53 من شركة Dako 92
- الشكل 13 مجموعة من الهامسترات من عينة البحث 221
- الشكل 14 مجموعة من الهامسترات من عينة البحث 221
- الشكل 15 بذور المشمش المر التي تم استخدامها في استخلاص مادة الأميدالين 222
- الشكل 16 الميزان المستخدم في وزن البذور بعد طحنها 222
- الشكل 17 تحضير الأميدالين: نقع الحبوب بعد طحنها في محلول الايثر 222
- الشكل 18 تحضير الأميدالين: ترشيح الخلاصة على ورق نشاف 222
- الشكل 19 مادة الأميدالين التجارية من شركة Terezia 222
- الشكل 20 الحقن البريتواني لمادة الأميدالين 223
- الشكل 21 دهن المادة السرطانية في الجيب الخدي 223
- الشكل 22 بداية ظهور التغيرات في المخاطية الخدية أثناء تطبيق المادة السرطانية (الأسبوع الخامس) 223
- الشكل 23 ظهور الورم الحليمي الشائك في المخاطية الخدية للهامستر أثناء تطبيق المادة السرطانية (الأسبوع السابع) 223
- الشكل 24 الجيب الخدي للهامستر بعد الاستئصال 223
- الشكل 25 جانب من العمل المخبري: صب العينات النسيجية في قوالب من شمع البارفين 224
- الشكل 26 جانب من العمل المخبري: صب العينات النسيجية في قوالب من شمع البارفين 224
- الشكل 27 من مراحل التلوين المناعي: الحضان بالمحلول الدائري 224
- الشكل 28 من مراحل التلوين المناعي: تطبيق الـ DAB 224
- الشكل 29 من مراحل التلوين المناعي لعينات البحث 224

الشكل 30 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي تشكل السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي بعد مرور 3 أشهر ونصف	225
الشكل 31 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي خلو ظهارة الجيب الخدي للهامستر من التغيرات الورمية في التجربة الثانية	225
الشكل 32 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 100×) يبدي التهاب الرئة الخلالي لدى هامستر من التجربة الأولى-اليوم الخامس	225
الشكل 33 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 100×) يبدي مقاطع سليمة لألياف العضلة القلبية	225
الشكل 34 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي الالتهاب الخلالي في الرئة للهامستر من التجربة الأولى- اليوم 15	226
الشكل 35 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (400×) تبدي سلامة ألياف العضلة القلبية للهامستر من التجربة الأولى- اليوم 15	226
الشكل 36 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 100×) للهامستر من التجربة الرابعة تبدي فرط تصنع في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية-اليوم الخامس عشر	226
الشكل 37 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 100×) للهامستر من التجربة الرابعة- تبدي سوء تصنع بسيط في البشرة- اليوم الخامس عشر	226
الشكل 38 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي فرط تصنع في البشرة في طبقة الخلايا القاعدية- اليوم العشرون	227
الشكل 39 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي مقاطع سليمة في بشرة الجيب الخدي للهامستر-اليوم العشرون	227
الشكل 40 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 400×) تبدي فرط التصنع البشري المترافق مع سوء تصنع متوسط الدرجة في الجيب الخدي للهامستر من التجربة الثالثة	227
الشكل 41 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (400×) تبدي سوء التصنع في الخلايا البشرية في الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة	227
الشكل 42 صورة مجهرية (تكبير 400×) تبدي سلبية الملون المناعي β -catenin في أحد العينات من التجربة الثالثة	228
الشكل 43 صورة مجهرية (تكبير 400×) تبدي ايجابية الملون المناعي bcl2 في إحدى العينات من التجربة الثالثة	228
الشكل 44 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 400×) تبدي فرط التصنع في بشرة الجيب الخدي للهامستر من المجموعة الثانية	228
الشكل 45 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 100×) تبدي فرط تصنع في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الثانية	228
الشكل 46 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 400×) تبدي فرط التصنع في الطبقة القاعدة وفوق القاعدية في الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة- اليوم العاشر	229
الشكل 47 صورة مجهرية (تكبير 100×) تبدي سوء التصنع في الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة – اليوم العاشر	229
الشكل 48 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 400×) تبدي البشرة الطبيعية للجيب الخدي للهامستر في اليوم العشرين من التجربة الرابعة	229
الشكل 49 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 100×) تبدي البشرة الطبيعية للجيب الخدي للهامستر في اليوم العشرين من التجربة الثالثة	229
الشكل 50 صورة مجهرية (تكبير 400×) تبدي سلبية الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العشرون	229
الشكل 51 صورة مجهرية (تكبير 400×) تبدي سلبية الملون المناعي P53 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة- اليوم العشرون	229

الشكل 52 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي ايجابية الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر	230
الشكل 53 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي ايجابية الملون المناعي p53 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر	230
الشكل 54 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي سلبية الملون المناعي β -catenin في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر	230
الشكل 55 صورة مجهرية (تكبير $\times 100$) تبدي ايجابية الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر	230
الشكل 56 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي ايجابية الملون المناعي P53 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر	231
الشكل 57 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي ايجابية الملون المناعي β -catenin في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر	231
الشكل 58 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي ايجابية الملون المناعي β -catenin في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الثانية	231
الشكل 59 صورة مجهرية (تكبير $\times 100$) تبدي سلبية الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الثانية	231
الشكل 60 صورة مجهرية (تكبير $\times 400$) تبدي سلبية الملون المناعي p53 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الثانية	231
الشكل 61 صورة مجهرية (تكبير $\times 100$) تبدي سلبية الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر من التجربة الثانية	231

الباب الأول : المقدمة والهدف من البحث

Introduction & Aim of The Study

المقدمة:

يعد السرطان واحداً من أخطر الأمراض التي تهدد الجنس البشري، إذ يشكل معاناة حقيقية للمصابين ومحور اهتمام الإنسان المعاصر. تتنافس الأبحاث في مجال تحديد أسباب هذا المرض وعوامل الخطورة المؤهبة للإصابة به، إضافة إلى طرق العلاج والوقاية منه. يُسجل يومياً مزيداً من الإصابات بشتى أنواع الأورام في مختلف أنحاء العالم والتي تصيب مختلف الأجناس والأعمار.

يتجه العلم الحديث إلى مزيد من التخصصات في السرطانات ودراسة السبيل الوراثي في كل سرطان. يرافق هذا التسارع العلمي اتجاه العامة من الناس نحو الطرق البديلة للعلاج على اختلاف أنواعها، عوضاً عن طرق العلاج التقليدية المعروفة (الجراحية والكيميائية والشعاعية)، التي باتت تشكل همّاً في بعض الأحيان سواء لتكاليفها المرتفعة أو لعدم فعاليتها في بعض الأحيان أو لبعض الاختلاطات التي قد تحصل من جراء الاستخدام العشوائي لأنواع مختلفة في آن واحد. يدخل تحت باب الطرق البديلة الكثير من الوسائل التي خضع بعضها للرقابة الطبية والبعض الآخر بقي عشوائياً من حيث ناحية الاستخدام و من ناحية انعدام الرقابة الطبية.

يُستخدم البعض من هذه الطرق تحت باب العلاج أو الوقاية أو كليهما معاً. حيث يتناول بعض الأشخاص السليمين سريراً المكملات الغذائية من معادن أو فيتامينات وغيرها على سبيل الوقاية. كما ويتناولها البعض كعلاج للأورام إضافة للعلاج التقليدي أو بمعزل عنه.

لهذا اتجهنا في هذا البحث لاختبار أحد هذه المكملات الغذائية أو العناصر العلاجية البديلة التي أثارت جدلاً كبيراً في الوسط الطبي وهو مادة الأميغدالين، أو حسب ما تسمى في بعض مراجع

الأدب الطبي بالـ "Laetrile" . تعد هذه المادة من المواد المحررة للسيانيد، وتستخلص من بذور

بعض الفاكهة مثل بذور المشمش واللوز والدراق التفاح و... وغيرها.

تقوم الدراسات حول الأميجدالين وفعاليتها في القضاء النوعي على الخلايا السرطانية من حيث

تحريضها على الموت الخلوي المبرمج بتحريره السيانيد في هذه الخلايا تحديداً بسبب محتواها

العالي من أنزيم البيتا غلوكوزيداز. على الرغم من تقرير سابق منظمة الغذاء والدواء الأمريكية

حول عدم الفعالية المزعومة لهذا العقار إلا أنه مازال يلاقي رواجاً كبيراً بين المرضى وبعض

الأطباء كعقار مضاد للسرطان. (Korman, 2012)

هدف البحث:

يهدف البحث إلى:

1. دراسة فعالية الأميجدالين كعلاج داعم للسرطان شائك الخلايا المستحدث في الجيب الحدي

للهاستر.

2. المقارنة بين فعالية الأميجدالين المستخلص والأميجدالين المستورد (الشكل الصيدلاني) من

حيث الفعالية العلاجية للسرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث في الجيب الخدي

للهاستر.

3. دراسة فعالية الأميجدالين المستورد (الشكل الصيدلاني) في الوقاية من السرطان شائك

الخلايا.

4. دراسة تأثير العقار على الموت الخلوي المبرمج من خلال دراسة تعبيرية BCL2

5. دراسة تأثير هذا العقار على كبح النمو الورمي للخلايا السرطانية من خلال دراسة

تعبيرية P53

6. دراسة تأثير الأميجدالين على الروابط بين الخلية من خلال دراسة تعبيرية β -catenin

7. دراسة تأثير الأميجدالين المستورد (الشكل الصيدلاني) على الأعضاء الحيوية الهامة،

القلب والرئة لدى الهامستر.

الباب الثاني المراجعة النظرية

Literature Review

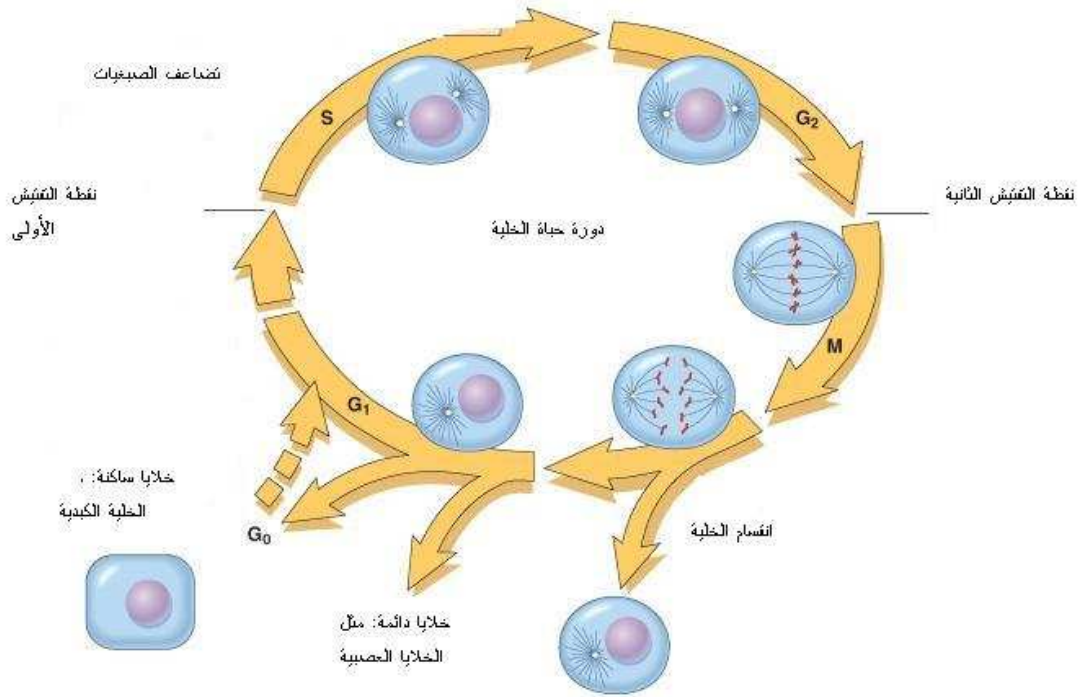
المراجعة النظرية:

دورة حياة الخلية:

تُعرف دورة حياة الخلية (Cell Cycle) على أنها الفترة الزمنية الفاصلة بين كل انقسامين خلويين. يُنظم التوازن بين انقسام الخلية وتمايزها وموتها خلال تطور العضوية الحية من خلال ما يعرف بالموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) (Young and Wheater, 2006).

تمر حياة الخلية بمرحلتين أساسيتين وهما مرحلة الانقسام (Mitosis) والمرحلة البينية (Interphase) التي تتألف بدورها من أربع مراحل وهي:

1. M: تبدأ منذ نهاية (Mitosis) أي أنها المرحلة التالية للانقسام مباشرة.
2. G1 phase (Gap1): هي المرحلة الفاصلة بين الانقسام وتضاعف الصيغة الصبغية للـ (DNA). وتستغرق حوالي إحدى عشرة ساعة.
3. S phase (Synthesis): هي مرحلة تضاعف الـ (DNA) ومدتها حوالي ثمانية ساعات.
4. G2 phase (Gap2): يتم فيها استمرار نمو الخلية وتركيب البروتينات وتستغرق حوالي أربع ساعات (Cooper and Hausman, 2013) (Young and Wheater, 2006).



الشكل 1-1 يوضح مراحل الدورة الخلوية (Kumar et al., 2013)

تمثل الفترات الزمنية سابقة الذكر (في الخلايا الحيوانية) الشكل أو الصيغة العامة للانقسام، لكن تختلف من نوع لآخر حيث تستغرق كامل الدورة حوالي التسعين دقيقة، وذلك في فطر الخميرة Budding Yeast. وتختلف كذلك ضمن خلايا النوع نفسه حيث تقتصر الدورة في الخلايا الجنينية مثلاً على المرحلة S التي تحدث بشكل سريع ثم تدخل الخلية مباشرة في مرحلة الانقسام.

إضافة إلى أن هناك خلايا لا تنقسم بعد تمايزها مثل الخلايا العصبية، وخلايا أخرى تمر بمرحلة سكون (G0) وتحتاج لمحفز خارجي لتعاود انقسامها من جديد وتستمر في الدورة الخلوية. إضافة إلى وجود خلايا تنقسم حسب الحاجة وذلك عند وجود أذية ما وكمثال على ذلك الخلايا المصورة

لليف في الجلد وخلايا بعض الأعضاء مثل الكبد والرئة والكلية. (Cooper and Hausman, 2013)

ثم تنقسم الخلية مروراً بأربع مراحل أساسية وهي:

Prophase و Metaphase و Anaphase و Telophase.

1. Prophase: تبدأ مباشرة بعد اكتمال تضاعف DNA في S phase حيث يتكثف

ويتقاصر الكروماتين وتختفي النوية وتوسم نهاية هذه المرحلة بتلاشي الغشاء النووي.

ينقسم المريكز (Centrosome) إلى مريكزين، يهاجر كل واحد منهما إلى أحد قطبي

الخلية. ويتشكل بينهما حزم من نبيبات دقيقة (مغازل الانقسام).

2. Metaphase: يرتبط كل صبغي متضاعف عند عقدة تسمى (Kinetochore)،

وتصطف الصبغيات عند منتصف الخلية. تراقب Kinetochore اصطفاف الصبغيات

وتتحكم بانتقال الانقسام إلى المرحلة التالية وتسمى نقطة تفتيش الـ Metaphase

(Metaphase Checkpoint) حيث تمنع حدوث الانقسام الخلوي إذا لم يكن عدد

الصبغيات متساوياً.

3. Anaphase: يتم في هذه المرحلة انشطار المريكز ثم يهاجر كل مريكز إلى قطب من

المغزل ويحدث توزيع دقيق للمادة المورثية المتضاعفة.

4. Telophase: يعود الصبغي ليأخذ الشكل الذي كان عليه في المرحلة البينية ويتشكل

الغشاء النووي من جديد وتظهر النوية، ويتم الانقسام لخليتين بنتين متساويتين في الحجم

عند أخذود الانشطار (Cleavage Furrow) في منتصف الخلية (Young and

(Wheater, 2006).

تُنظم دورة حياة الخلية بمجموعة من الإشارات خارج الخلية التي تتحكم وتنظم دورة حياة الخلية، وكمثال على ذلك عوامل النمو (Growth factors) فمثلاً تحتاج الخلية حتى تخرج من طور السكون (Go) إلى إشارة خارجية من عامل النمو المشتق من الصفائح (Platelet derived growth factor, PDGF)¹.

يتم تنظيم دورة حياة معظم الخلايا في مرحلة G1، لكن بعضها يُراقب في مرحلة G2 حيث يُضبط في هذه المرحلة حجم الخلية وكمية المغذيات فيها. وكمثال عليها الخلية البويضية (Oocytes) تبقى هذه الخلية في مرحلة Go، وذلك عند الفقاريات، لتعود وتُفعل من قبل الإشارات الخارجية متمثلةً بالهرمونات. إذن تُعتمد نقاط تفتيش أساسية بالنسبة لدورة حياة الخلية وهي في مرحلة G1 و G2. يلعب بروتين P53 دوراً أساسياً في نقطة التفتيش G1 ويستجيب لأية أذية في الـ DNA حيث تسمى المورثة المسؤولة عن تركيب هذا البروتين بالمورثة الحارسة للجينوم (P53) وتُحتجز الخلية إلى أن يتم تصحيح الخلل في الـ DNA . لهذا تؤدي طفرات المورثة P53 المسؤولة عن تركيب هذا البروتين إلى حدوث تكاثر غير مسيطر عليه للخلايا ونشوء الأورام (Cooper and Hausman, 2013)

عندما تُتهي الخلية عدد انقساماتها المحدد وراثياً بما يسمى التيلومير (Telomere) الذي يُحمل على نهاية الصبغي ويتناقص بعد كل دورة خلوية، يتم فحصه دورياً من قبل المورثة الحارسة

¹ يُتحرر عامل النمو هذا من صفائح الدم عند الحاجة ويحرض تكاثر الخلايا المصورة لليف في النسيج المتأذية بهدف الترميم.

للجينوم P53 ومورثة RB (Retinoblastoma). تؤدي أية طفرة في إحدى هاتين المورثتين إلى التحام نهائي الصبغي المتقاصرتين، فينتج صبغيات غير مركزية، تتمزق في نهاية مرحلة Anaphase وينتهي عدم الاستقرار المورثي هذا بموت الخلية إلا في حال تطور نظام تفعيل التيلوميراز Telomerase فيكون قد تراكم العديد من الطفرات في المورثات وتدخل الخلية في مرحلة الخباثة (Kumar and Robbins, 2007)

أما في حال سلامة الخلية فإنها تدخل بعد انتهاء عدد انقساماتها في عملية الموت الخلوي المبرمج Apoptosis الذي يتمثل بانكماش الخلية وتكثف الكروماتين وتشدق النواة. تعد مورثة P53 أولى المورثات التي ارتبطت بالموت الخلوي المبرمج (المورثة الكابحة للورم)، وهي تتوضع على الذراع القصير للصبغي رقم 17 ، ويسمى البروتين الذي تصنعه TP53، الذي يتألف من 393 حمضاً أمينياً. يسمى النمط الطبيعي لهذه المورثة Wild type ويكون نصف عمره الحيوي قصيراً جداً (حيث يدمره بروتين MDM2 خلال 20 دقيقة) مما يصعب تحريره في النسيج السليمة . لكن البروتين يبقى في النسيج لفترة أطول في حالة الطفرات وعند الارتباط ببروتينات أخرى. من أكثر الطفرات شيوعاً، الطفرات النقطية التي تصيبه من الاكسون 5 إلى الاكسون 8، هذه الطفرات فيها تعيق الخلية من القدرة على ترميم طفرات الـ DNA أو الدخول في الموت الخلوي المبرمج مما يؤدي إلى نمو غير مسيطر عليه للخلايا فتتحول بعدها إلى خلايا ورمية (Chang et al., 1993)(Kumar and Robbins, 2007).

تصاب الـ P53 بطفرات في أغلبية الأورام التي تصيب الإنسان، وغالباً ما يرتبط ارتفاع تعبيريتها مع درجات متقدمة من الورم والإنذار السيئ للمريض. تم تصنيفها عام 1992 كبروتين

مسؤول عن النقطة التفتيشية في دورة حياة الخلية (Checkpoint protein) يحتجز دورة حياة الخلية للحفاظ على سلامة الدنا بعد تضاعفه، وفي حال عدم القدرة على الترميم تحفز حدوث الموت الخلوي المبرمج. من الأذيات التي تفعل هذه المورثة هي التعرض للإشعاعات ونقص الأكسجة و غيرها ... (Lowe and Lin, 2000).

يتجه الباحثون الآن في عصر الواسمات الجزيئية الحيوية (Biomolecular markers) نحو تقصي هذه الواسمات للكشف عن الآليات المعقدة التي تتحكم بنمو الأورام. حيث تلعب كل من مستقبلات عوامل النمو والهرمونات إضافة لانزيمات المورثات الورمية والمورثات الكابحة للورم دوراً هاماً في مراحل مختلفة من العملية الورمية وذلك لمختلف أنواع الأورام. يُفترض أن التكاثر الخلوي، من ضمن هذه الواسمات، يرتبط بدرجة السلوك العدائي للورم لكنه لا يقيس العامل السبب المرتبط بهذه الحدثية. يمكن قياس النشاط الانقسامي بطرق عديدة منها تقييم الخلايا خلال عملية تركيب الدنا وذلك بتحري نواتج (precursors) معينة مثل الثيميدين (Thymidine) أو من خلال تعبيرية بعض المستضدات المرتبطة بالتكاثر الخلوي مثل Ki67 و PCNA. (Medri et al., 2003).

حيث تؤكد الدراسات على أهمية الـ Ki67 والـ P53 كواسمات حيوية في التشكل الورمي في السرطان شائك الخلايا في الحفرة الفموية، وتبرز أهمية مشعر الانقسام الخلوي بشكل خاص في التعبيرية التي تظهر بوضوح في الخلايا الورمية الخبيثة على حدود الورم الغازية (Verma et al., 2014)(Kannan et al., 1996)(Iamaroon et al., 2004).

تُعد الـ BCL-2 أولى المورثات المضادة للموت الخلوي المبرمج، تم التعرف على العديد من عناصر عائلة الـ BCL-2 المنظمة للموت الخلوي المبرمج، التي تتضمن ستة عناصر مضادة للموت الخلوي المبرمج. تنظم الـ BCL2 كل أنواع الموت الخلوي الأساسية من الموت الخلوي المبرمج Apoptosis والنموت التنخري Necrosis إلى البلعمة الذاتية Autophagy. تلعب بروتينات هذه المورثات دوراً رئيساً في السيطرة على آليات الموت الخلوي ومن الممكن أن يسهم التبدل في تعبيرية هذه المورثات في الآلية الإمبراضية للسرطان وتقدمه. تم اكتشاف هذه العائلة بدايةً بسبب الإزفاء (T(14;18) (Translocation)) الذي يلاحظ في سياق لمفومات لا هودجكين Non-Hodgkin lymphoma وإضافة للعبور الذي يصيب هذه العائلة من المورثات، حيث يمكن أن يحدث تضخم في المورثة (Amplification) يسبب حدوث لمفوما لا هودجكين والسرطانة صغيرة الخلايا في الرئة (Small cell carcinoma in Lung). (Yip and Reed, 2008). كما لوحظ في 85% من اللمفوما الجرابية (Follicular Lymphoma) حدوث تفعيل بمورثة BCL-2 بسبب العبور (t(8;14) (Kumar and Robbins, 2007)).

تضم هذه العائلة من المورثات مجموعتين الأولى هي مورثات سابقة للموت الخلوي المبرمج (Proapoptotic genes) وهي الـ BAX و الـ BAK، ومجموعة ثانية تمنع حدوث الموت الخلوي المبرمج وهي BCL-2 بالخاصة والـ BCL-XL. حيث تنظم هذه المورثات نفوذية غشاء المتقدرات داخل الخلية وخاصة أن المتقدرات تحتوي السييتوكروم c، Cytochrome c،

الذي يرتبط خروجه إلى الهيولى ببدء عملية الموت الخلوي المبرمج بالطريق الداخلي (Kumar and Robbins, 2007).

السرطان:

تعريف:

عرفه الطبيب اليوناني Galen في البدايات على أنه مرض يشبه حيوان السرطان "Crab" من حيث أن له أرجلاً ويمتد ويغزو المناطق المجاورة. أما اليوم يُعرّف السرطان على أنه نمو ورمي سليم أو خبيث سببه تكاثر انقسامي خلوي غير طبيعي وغير مسيطر عليه، ومن الممكن أن ينتقل الخبيث منه إلى النسيج المجاورة أو يستعمر أماكن بعيدة عن المكان الأولي وذلك باستخدام السبيل الدموي أو اللمفي. يمثل هذا التعريف وصفاً مبسطاً لمرض معقد تختلط فيه مجموعة من السبل والإشارات الخلوية حيث تقوم الدراسات السرطانية منذ عقود على فهم الآليات الجزيئية التي يحدث من خلالها. (Argyle and Blacking, 2008).

تسبب التعبيرية غير الطبيعية للجزيئات المنظمة لدورة حياة الخلية تبدلات في هذه الدورة وبالتالي حدوث نمو غير مسيطر عليه للخلايا، وهو المفهوم العالمي لمصطلح التنشوء الورمي (Neoplasia). (Balasubramanian et al., 1999) كما ويُعرّف السرطان على أنه مجموعة أمراض تتمثل بتكاثر ذاتي للخلايا الورمية التي أُصيبَت بمجموعة طفرات وعدم الاستقرار الوراثي. (Meza-Junco et al., 2006)

الأسس الجزيئية للسرطان:

تعرف عملية التسرطن (Carcinogenesis) على أنها عملية متعددة الخطوات مرتبطة مع تراكم طفرات جسدية (Somatic mutations) في أنواع محددة من المورثات المسؤولة عن تنظيم تكاثر الخلية والموت الخلوي المبرمج وترميم الـ DNA. تصيب الطفرات خلال عملية التسرطن المورثات السرطانية (Oncogenes) وهي منظم إيجابي لدورة حياة الخلية، على العكس من المورثات الكابحة للسرطان (Tumor suppressor gene) التي تلعب دوراً معاكساً حيث تثبط دورة حياة الخلية. تؤدي الطفرات المورثات التي تحافظ على استقرار الدنا إلى زيادة معدل الطفرات في الخلايا السرطانية وإلى تقدم الورم بالنتيجة (Jankovic et al., 2004).

تتضمن عملية تحول الخلية الطبيعية إلى خلية سرطانية، وهي عملية معقدة، تتضمن مراحل متعددة تؤدي إلى ظهور مجموعة من الخلايا لا تشبه الخلايا السليمة. كان قد أشار كل من Anderson و Spandidos إلى وجود ثلاثة أصناف من المورثات:

أ. المورثات السرطانية (Oncogenes)، التي تشتق من المورثات السليمة

(Protooncogenes)، وبالتالي تصبح مفعلة أي تصبح oncogenes

ب. مورثات القولية (Modeling genes) التي تسبق حدوث السرطان Predispose

ويطراً عليها الطفرات، هناك عموماً مجموعة من المورثات المغايرة والتي تدخل في

عملية ترميم الدنا.

ج. المورثات الكابحة للسرطان (Oncosuppressor genes) أو تعرف بالمورثات الكابحة للورم. تملك هذه المجموعة القدرة على كبح النمط السرطاني. تكون آلية عملها معقدة ويبدو أنها مسؤولة عن كبح التكاثر الخلوي وليس تنظيم المورثات السرطانية بشكل مباشر. (Baba and Câtoi, 2007)

المورثات السرطانية Oncogenes: هي المورثات المسؤولة عن التحول الورمي في الخلايا. يتغير تركيب هذه المورثات تحت تأثير طفرات أو فيروسات معينة. تكون هذه التغيرات على مستوى الصبغيات مثل تبديل مواقع المورثات على الصبغي أو العبور (Translocation) أو حذف جزء من المورثات (Deletion) أو مضاعفتها (Duplication). إن هذه المورثة هي النسخة المفعلة من المورثة Protooncogene حيث تُشاهد هذه النسخة المفعلة في الأورام. يوحى تنوع التغيرات البنيوية بوجود علاقة مباشرة بين المورثة المفعلة (Activated gene) والنمط الظاهري للخلية (Phenotype) بغض النظر عن الطريقة التي تفعلت بها المورثة (طفرات Mutations أو إدخال فيروسي عكسي Retroviral insertion أو تضخيم Amplification أو عبور Transduction).

المورثات الكابحة للسرطان Antioncogenes\ Tumor suppressor genes: هي المورثات التي تكبح التكاثر الخلوي ويسبب غيابها أو تثبيطها التحول الخبيث للخلايا. على العكس من المورثة السرطانية التي تكون خواصها سائدة ويسبب تفعيلها حدوث السرطان فإن هذه المورثات ذات خواص متثبطة وتثبيطها يسبب التحول الخبيث. يتظاهر دور

المورثة الكابحة للسرطان بكبح تكاثر الخلية وليس بالتنظيم المباشر للمورثات المسرطنة (Baba and Cătoi, 2007).

حصرت المورثات المسؤولة عن عملية التسرطن في أربع مجموعات وهي:

1. طليعة المورثة السرطانية (Proto-oncogene)
2. المورثة الكابحة للسرطان (Tumor suppressor gene)
3. المورثة المرممة لعيوب الـ DNA (DNA repair gene)
4. المورثة المنظمة للموت الخلوي المبرمج (Regulate programmed cell death gene) (Kumar et al., 2013).

لا تستطيع الأورام أن تنمو أكثر من 1-2 مم ما لم تكن موعاة، حيث تعد هذه المسافة العظمى التي يمكن أن يؤمن فيها أكسجة الخلايا وعملية التبادل الغذائي والاستقلاب. تحفز الخلايا الورمية نمو أوعية جديدة متبرعمة من الأوعية الموجودة مسبقاً في النسيج. ويتم حشد الخلايا البطانية (Endothelial cells) من نقي العظام. وتكون الأوعية المستحدثة غير طبيعية وصغيرة الحجم وتفرز الخلايا الورمية كذلك مواداً تحفز نمو الخلايا الورمية المجاورة (Kumar and Robbins, 2007).

تكون سرعة تشكل الأوعية الحديثة أكثر بـ 20-2000 مرة منها في النسيج الطبيعية وتعد كثافة الأوعية الدقيقة حديثة التشكل مشعراً على نمو الورم وقدرته على الغزو والاستعمار. تم التعرف منذ عام 1991 على العديد من الواسمات التي تسم الأوعية الدموية. لكن لا يستطيع

أي منها التمييز بين الأوعية القديمة والحديثة الشكل باستثناء الـ CD105، وهو عبارة عن غليكوبروتين يتوضع في الغشاء الخلوي للخلايا البطانية ويتفعل في حالة نقص الأكسجة، تعتبر تعبيريته منخفضة أو غائبة في الأنسجة الطبيعية وتزداد تعبيريته بازدياد حجم الورم وبالتزامن مع الغزو للعقد اللمفية وبالتالي اعتبر عاملاً هاماً للتنبؤ بإنذار الورم. توصلت إحدى الدراسات إلى أن تعبيريته في الأوعية الدموية في الأنسجة الورمية للسرطان شائك الخلايا الفموي كان أعلى وبشكل ملحوظ بالمقارنة مع نظيره في الأنسجة السليمة (Tadbir. et al., 2014)(Margaritescu et al., 2008).

تظهر تعبيرية CD105 المستقبل الغشائي لعامل النمو المحول بيتا في الخلايا البطانية للأوعية في اللحمية الورمية، وتكون تعبيريته منخفضة وقت الراحة وتزداد في الخلايا البطانية المفعلة خلال التنشوء الوعائي للأورام، ويمكن استخدامه كدليل على التنشوء الوعائي وكثافة الأوعية في الأورام (Perez-Gomez et al., 2010)

يحدث السرطان من خلال سلسلة من سبعة تغيرات أساسية في وظيفة الخلية، وهذه التغيرات هي:

1. اكتفاء الخلية بعوامل النمو الذاتية
2. عدم الحساسية للإشارات الكابحة للنمو
3. الهروب من الموت الخلوي المبرمج
4. القدرة غير المحدودة على التضاعف
5. تخلق وعائي جديد وداعم
6. القدرة على الغزو والاستعمار

7. عدم الاستقرار المورثي وسببه الخل في عملية اصلاح الـ DNA (Kumar et al., 2013)

ذُكر دور المورثة الحارسة للجينوم P53 والبروتين الذي تفرزه هذه المورثة في كبح الأورام من خلال سيطرتها على دورة الخلية، وإشرافها على انقسام الدنا في الدورة الخلوية. يُنَبَّط فعل هذه المورثة بسبب الطفرات أو التفاعل مع المنتجات الفيروسية، أو بفعل آليات داخل خلوية (Harris, 1996).

كما ذكرنا في دورة حياة الخلية بروتينات عائلة BCL-2، التي تلعب دوراً هاماً في الموت الخلوي المبرمج، التي قُسمت إلى مجموعة محرضة على الموت المبرمج مثل الـ BAX والـ BAK، وأخرى معاكسة له مثل الـ BCL-2 و الـ BCL-X، لذلك تتجه الدراسات الحالية للقضاء على البروتينات في المجموعة الثانية كعلاج نوعي للسرطان (Aritomi and Ohta, 1999)

هناك العديد من العوامل التي تعد من عوامل الإصابة السرطانية:

1. العوامل الكيميائية: وتُقسم بدورها إلى:

• عوامل كيميائية مباشرة: تندرج ضمن المجموعات التالية:

أ. في المنتجات الطبيعية والنباتات مثل: Aflatoxin B1 و Betel nuts

ب. الأمينات العطرية والأميدات والأصبغة الآزوية: Dimethylaminoazobenzene

ج. مركبات الفحم الهيدروجينية العطرية متعددة الحلقة: Benz anthracene

د. العوامل المقلونة (Alkylating agent): Dimethyl sulfate وبعض الأدوية

المضادة للسرطان مثل: Cyclophosphamid و Chlorambucil

• عوامل كيميائية غير مباشرة: تحتاج هذه العوامل إلى عملية تحويل عن

طريق الاستقلاب حتى تُحدث الأثر السرطاني، مثل مركبات

benzoperyene التي تتشكل بالحرارة العالية للتبغ أثناء التدخين.

2. الأشعة المسرطنة: تسبب الإشعاعات المؤينة تفكك الصبغيات وحدوث

إزفاء translocation وطفرات نقطية تؤدي إلى أذية نقطية وحدوث السرطان

3. العوامل الجرثومية والحماة الراشحة: مثل الفيروس الحلبي البشري وفيروس

ايبشتاين بار وفيروس التهاب الكبد B و C وجرثومة Helicobacter

pylori (Kumar et al., 2013).

ومن هنا، يمكن إحداث السرطان في حيوانات التجربة بتطبيق بعض المواد المسرطنة، تعد

الظاهرة لدى الفئران أبرز الأمثلة التي يدرس عليها تطبيق المواد المسرطنة في سياق

الأبحاث العلمية. حيث يمكن استخدام هذه الفئران لدراسة سبل الوقاية من السرطان وكذلك

الأسس المورثية لنشوء السرطان ومراحل أو خطوات تطوره. تتراكم مجموعة من الطفرات

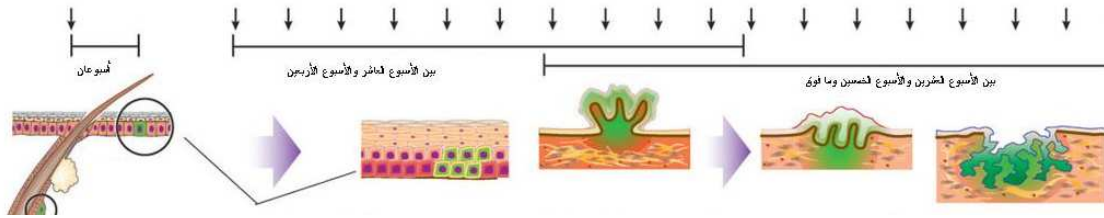
في المورثات نتيجة تطبيق المواد المسرطنة لتؤدي بالتالي إلى تشكل الخباثات الظهارية

وتشكل مورثة c-Ha-ras أولى المورثات التي تطفّر. تبدأ بعدها المرحلة الثانية التي تتمثل

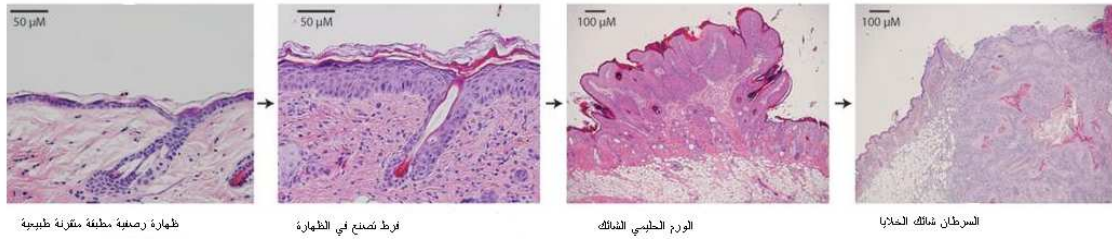
بعملية توسيع النسيلة Clonal expansion ليتشكل آفة قبيل سرطانية مرئية (الورم

الحلبي-Papilloma)، باستمرار تراكم الطفرات تتحول هذه الآفة إلى سرطان شائك

الخلايا (DiGiovanni, 1992). يكفي تطبيق جرعة واحدة من المادة المسرطنة لاستهلال العملية السرطانية (initiation) وبعدها في المرحلتين التاليتين (ترقي الورم وتقدمه promotion and progression) تصبح العملية غير عكوسة، إلا أن السرطان لن يتشكل إلا عند التطبيق المتكرر للمادة المسرطنة (Abel et al., 2009).



الشكل (1-2) يوضح مراحل تشكل السرطان في الجلد عند الفئران (Abel et al., 2009)



الشكل (1-3) يوضح المراحل النسيجية لتشكل السرطان بدءاً من المرحلة الطبيعية مروراً بمرحلة فرط التصنع فتشكل الورم الحليمي وأخيراً نشوء السرطان شائك الخلايا (Abel et al., 2009)

تعد مادة DMBA (7,12-dimethylbenz[a]-anthracene) أكثر المواد المسرطنة شيوعاً، تستخدم في إحداث السرطان في الظهارة الفموية في الجيب الخدي للهامستر بغية

دراسة تأثير عقارات معينة في الأورام المتشكلة لدى حيوانات التجربة إثر تطبيق هذه المادة (Li et al., 2002).

تُصنف مادة DMBA في عائلة الكربونات الفحم الهيدروجينية العطرية عديدة الحلقة، تعمل على كبح المناعة وإحداث السرطان في أعضاء معينة. يعتمد سبيل استقلاب مادة DMBA على وجود أنزيم Meh (microsomal epoxide hydrolase) الضروري لتحويل مادة الـ DMBA من صيغته غير الفعالة (DMBA-3,4-epoxide) إلى الصيغة الفعالة (DMBA-3,4-diol-1,2-epoxide) التي تستهل العملية السرطانية. يوجد هذا الأنزيم في الكبد بشكل أساسي، إضافة إلى مجموعة من الأعضاء الأخرى، مثل الكلى والرئة والمبيض والخصية والتموس والطحال (Miyata et al., 2001).

يتبع السبيل الإستقلابي الآخر للـ DMBA، تحريضه لحدوث upregulation لأنزيم السيتوكروم P450، الذي يعمل بدوره على تحويل الـ DMBA إلى الصيغة النهائية الفعالة المسرطنة.

ومن السبل الأخرى التي يُحدث فيها الـ DMBA السرطان تفعيل المورثات المسرطنة (Oncogenes) في سبيل wnt مثل مورثة Cyclin D1 و c-myc. (Currier et al., 2005).

تعد عملية الاستعمار الورمي عملية معقدة، تتضمن الكثير من التفاعلات المتبادلة بين الخلايا الورمية والأنسجة المجاورة ومنها على سبيل المثال اختراق الأوعية والخروج منها والالتصاق

واستحداث أوعية دموية. يلعب الالتصاق الخلوي دوراً أساسياً في تقدم الورم والاستعمار. تعد عائلة الكادهيرينات (Cadherins) أساسية في عملية الالتصاق الخلوي وتم إلى الآن التعرف على أكثر من 20 نوعاً منها. (Alizadeh et al., 2014) الانتغرينات (Integrins) من أهم اللواصق بين الخلية والخلوية المطرقية. تنظم الانتغرينات الالتصاق بين الخلوي والغزو الوعائي والاستعمار. (Lee and Moon, 2016).

يُسيطر على عمل الكادرهيرينات بواسطة الذيل داخل الخلوي الذي يدعى الببتا كاتانين β -catenin. لا ينحصر دور الكادرهيرينات في الربط بين الخلوي وإنما يتعداه إلى السيطرة على الانتقالات الورمية والاستعمار. حيث يترافق انخفاض تعبيرية هذه البروتينات مع زيادة فرص الانتقال والاستعمار في الخلايا الورمية. (Alizadeh et al., 2014).

المناعة والسرطان:

يلعب الارتكاس المناعي دوراً هاماً في تحديد انتشار الأورام. هذا وقد افترضت التقارير في الأدب الطبي أن الخلايا المناعية التي ترتشح إلى مكان وجود السرطان تلعب دوراً مناعياً ضد السرطان وانتقاله (Mori et al., 2011). تلعب للمفاويات التائية CD4 دوراً في رفض الورم من خلال زيادة تنظيم (Up regulating) معقد التوافق النسيجي النمط الأول (MHC-1)²، وكبح التشكل الوعائي (Anti-angiogenesis) وتحفيز السمية الخلوية في الخلايا السرطانية من خلال مساعدة للمفاويات التائية (CD8) ذات الفعل الحال للخلايا الهدف (lytic action).

²معقد التوافق النسيجي: وظيفة هذا الجزيء ربط الشدفة الببتيدية المشتقة من العامل الممرض وإظهاره على سطح الخلية المصابة حتى تتعرف عليه الخلايا التائية

تُظهر معظم الخلايا الورمية على سطحها معقد التوافق النسيجي الكبير النمط الأول، لذلك تستجيب لها الخلايا للمفاوية التائية (CD8) وتقتلها. فيما تقوم الخلايا للمفاوية التائية (CD4) بتعزيز حشد الخلايا (CD8) ومن تراكمها وتمايزها، ولهذا تعد خلايا أساسية في المناعة ضد السرطان (Bos and Sherman, 2010). من الوظائف الأخرى للخلايا (CD4) إفراز اللمفوكينات (Lymphokins) التي تضاعف النشاط الخلوي للخلايا للمفاوية التائية (CD8) والخلايا المناعية الأخرى (Marzo et al., 2000).

كما تلعب الخلايا البالعة الكبيرة (Macrophages) دوراً هاماً في دفاعات الجسم ضد الالتهابات المزمنة والسرطانات. يحفز كل من عامل التخر الورمي غاما ($\text{IFN-}\gamma$) وعمليات السكاكر الشحمية (LPS) نشاط البالعات الكبيرة، التي بدورها تفرز السيتوكينات قبيل الالتهابية (Proinflammatory cytokines) مثل IL-12 و TNF α والجذور الحرة وكلها تلعب دوراً هاماً ضد الجراثيم وضد السرطان (Gordon, 2003).

يتألف الارتشاح اللمفي في العديد من الأورام من خليط من الخلايا للمفاوية من كلا النوعين CD8^+ و CD3^+ . يعد الـ CD3^+ واسماً يوجد على سطح الخلايا للمفاوية التائية الناضجة، ويستخدم للتحري عن وجود الخلايا للمفاوية التائية من كلا النوعين المساعدة (Helper) والسامة (Cytotoxic)، فالخلايا التائية CD3^+ تمتلك فعالية مضادة للأورام. وكذلك تلعب الخلايا CD8^+ دوراً هاماً ضد الأورام حيث تتمتع بخاصية القتل المباشر للخلايا الورمية كما تفرز الخلايا المناعية التائية السيتوكينات، التي تساهم في التوازن بين المناعة الخلوية والمناعة الخلوية. إذ يلعب الانترلوكين 2 (IL-2)، الذي تفرزه التائيات في طور الاستجابة المناعية، على

سبيل المثال، دوراً هاماً في نمو وتكاثر وتمايز الخلايا اللمفاوية التائية حتى تصبح

فعالة (Ortegel et al., 2002)(Tian et al., 2015)

أكدت دراسة أخرى كذلك على ارتباط ازدياد عدد اللمفاويات $CD3^+$ مع تحسن نسبة البقاء في

السرطانات البشرية في الرئة (Al-Shibli et al., 2010)

يترافق انخفاض تعبيرية الـ $CD3$ في الرشاحة المناعية حول الأورام مع الإنذار الأسوء

للمريض. حيث أكدت الدراسات أهمية الاستجابة المناعية المتمثلة بالخلايا التائية السامة $CD8$

والتائية $CD3$ في تعزيز نجاة المرضى المصابين بالسرطانات البشرية في الحالب (Sjodahl

et al., 2014)

كما سجل المرضى المصابين بالسرطان شائك الخلايا في الرأس والعنق والذي تفتقر الرشاحة

المناعية حوله إلى الخلايا التائية $CD3$ معدلات نكس اعلى مما لو كانت الرشاحة غنية بالخلايا

التائية $CD3$. كانت الرشاحة الغنية بالخلايا ايجابية الـ $CD3$ أعظم مؤشر على خلو حواف

الورم من الخلايا السرطانية (Shibuya et al., 2002)

التغيرات المرضية في المخاطية الفموية:

الاضطرابات التي تحمل إمكانية التحول الخبيث: Potential Malignant Disorders (PMD)

تعرف الآفات قبيل السرطانية (Premalignant Lesions) على أنها تغيرات شكلية تطرأ

على المخاطية الفموية السليمة وتحمل معدل خطورة مرتفع للتحول إلى سرطان فموي.

اصطلحت منظمة الصحة العالمية عام 2005 على تغير التسمية لتصبح الاضطرابات التي تحمل إمكانية التحول الخبيث (Potential Malignant Disorders, PMD)، حيث أنه ليس بالضرورة أن تتحول كلها إلى سرطان فموي (Issrani et al., 2013, Goyal D, 2013, Pardeep Goyal and Ashish)(Nair et al., 2012)(Panwar SK1, 2013)(2012 Aggarwal, 2012)(Warnakulasuriya et al., 2007). وتشمل هذه الآفات حسب التصنيف الحديث مايلي:

1. الطلاوة البيضاء Leukoplakia.
 2. الطلاوة الحمراء Erythroplakia.
 3. آفات الحنك الناتجة عن التدخين بالطريق العكوس Palatal lesion of reversed cigar smoking.
 4. الحزاز المنبسط الفموي Oral Lichen Planus.
 5. التليف تحت المخاطي الفموي Oral Submucosal Fibrosis, SMF.
 6. بعض الاضطرابات الوراثية Hereditary disorders.
- (Warnakulasuriya et al., 2007)

1. الطلاوة البيضاء:

عرفت أول مرة عام 1877 في بودابست، على أنها تغيرات بيضاء على اللسان تسبق الإصابة بسرطان اللسان وذلك عند مرضى الزهري الثالثي. إلى أن عرفت منظمة الصحة العالمية عام

2005 على أنها لويحات بيضاء متقرنة لا يمكن كشطها ولا يمكن أن تشخص مرضياً ولا سريراً على أنها أية آفة أخرى (Petti, 2003). مازالت الآلية الإمراضية غير معروفة بدقة لكن هناك مجموعة من عوامل الخطورة التي تؤهب للإصابة مثل التدخين وتناول الكحول والتخريش المزمن (Electro Galvanic Reaction) (Holmstrup et al., 2006). تنقسم إلى نمطين سريريين وهما النمط المتجانس والنمط غير المتجانس. وضع للنمط المتجانس أربعة أنواع فرعية وهي:

أ. لويحات بيضاء إلى رمادية اللون ولا طئة وشفافة ورقيقة.

ب. طلاوة ثخينة متماثلة: ناعمة أو متشققة.

ج. طلاوة ذات سطح حبيبي أو عقيدي أو قرنبيطي.

د. طلاوة مبرقشة (Speckled) أو غير متجانسة. (Hansen et al., 1985)

يتراوح إنذار التحول إلى خبائة بالنسبة للطلاوة البيضاء الفموية بين 15 و 39% . وأشار Petti

في دراسته إلى أن التحول السنوي لهذه الآفات يبلغ 1,36% (Petti, 2003)



الشكل 4-1 صورة سريرية توضح الإصابة بالطلاوة البيضاء في باطن الخد (Gurudath et al.,

2012)

2. الطلاوة الحمراء:

تعرف أنها لويحات حمراء متجانسة أو مبرقشة أو مختلطة مع الطلاوة البيضاء، ليست شائعة الحدوث (0,02-0,8%) لكنها مرتفعة الخطورة (Reichart and Philipsen, 2005). لا تميل لإصابة جنس معين. يصيب 80% منها أرض الفم ويلاحظ فيها وجود مناطق غزو بؤري (Lapthanasupkul et al., 2007, Reichart and Philipsen, 2005)



الشكل 5-1 صورة سريرية للإصابة بالطلاوة الحمراء في قبة الحنك

3. آفات الحنك الناتجة عن التدخين بالطريق العكوس:

أكثر ما تلاحظ في دول جنوب وجنوب وشرق آسيا، حيث يحدث تبدل في المخاطية المغطية لقبة الحنك بسبب الأذية الحرارية الناتجة عن التدخين المعكوس (Ortiz et al., 1996)

4. الحزاز المنبسط:

هو اضطراب مناعي ذاتي يصيب الجلد والأغشية المخاطية، تكون إصابة الإناث ضعف إصابة الذكور. عندما تكون الإصابة فموية فإنها نادراً ما تترافق مع آفة جلدية (BW., 2009 , Sugerman et al., 2002)

لا يوجد دليل وثيق على ترافق تحول الحزاز إلى سرطان شائع، فيما تذكر الدراسات الراجعة retrospective هذا التحول وتقول أنه يحدث بمعدل أقل من 1% (Kaplan et al., 2012, van der Meij et al., 2007)



الشكل 6-1 صورة سريرية للحزاز المنبسط الفموي-النمط الشبكي

5. التليف تحت المخاطي الفموي:

يعرف التليف تحت المخاطي على أنه آفة مزمنة تتظاهر بتليف في الصفيحة الخاصة للظهارة المصابة والطبقة تحت المخاطية وفقدان تدريجي متزايد لحركة النسيج. تترافق الفموية منها مع عادة مضغ التنبول (Betel Quid) (Tilakaratne et al., 2006).

يعد كل من قاع الفم والمنطقة الجانبية للسان والمثلث خلف الرحوي والحنك الرخو أشيع مناطق الإصابة (Puneet Kumar, 2012). يقدر معدل التحول السرطاني حسب إحدى الدراسات 20-68% (Messadi, 2013).

يبلغ معدل التحول السنوي إلى سرطان شائع الخلايا 5,6-7% وذلك حسب ما أوضحت إحدى الدراسات (Murti et al., 1985).

6. بعض الاضطرابات الوراثية:

تحدث معظم هذه الإصابات عند الذكور³، وكمثال عليها سوء التقران الخلقي (Congenital Dyskeratosis)، الذي يتظاهر بلويحات بيضاء على ظهر اللسان تختلط مع الطلاوة البيضاء، لكن غياب السبب أو عامل الخطورة المرتبط بآفات الطلاوة عادةً إضافة إلى صغر عمر المصابين بالآفات الخلقية يرجحها على الطلاوة البيضاء(Nair et al., 2012).

تدبير الاضطرابات التي تحمل إمكانية التحول الخبيث:

ينحصر تدبيرها في ثلاثة إجراءات أساسية:

أ. المراقبة والمتابعة الدقيقة للمريض.

ب. القلع الجراحي.

ج. المعالجة الدوائية.

الخزعة والتشخيص المرضي النسيجي: (Histopathologic Diagnosis):

اشتقت كلمة خزعة من الكلمة اليونانية (Bios) وتعني الحياة و (Opsis) (Kiran kumar, 2012). تقوم الخزعة على اقتطاع جزء من النسيج الحي بهدف الفحص المجهرى والتشخيص، حيث يعد المعيار الذهبي للتشخيص (Kumaraswamy et al., 2012)، من شروط الخزعة الجيدة اختيار موقع الخزعة ونوعها ووضع الوصف السريري الدقيق المرتبط بالآفة لأن هذا يساعد المشرح المرضي إلى حد كبير في وضع التشخيص النهائي(RM Logan, 2010)تؤخذ الخزعات لدراساتها مجهرياً وبناءً على التقرير المرضي يُوضع التشخيص النهائي وتُحدد خطة

³ يعود السبب في إصابة الذكور في هذه الاضطرابات كون الصيغة الصبغية (XY) إذ يكفي أن يرث مورثة طافرة واحدة (X) حتى يصاب في حين تحتاج الإصابة حتى تظهر عند الإناث أن يحدث طفرات في كلا الأليلين كون الصيغة الصبغية لديهم (XX)

المعالجة. تكون هذه الخزعات إما استئصالية Exisional biopsy أو خزعات استقصائية Insicaional ممكن أخذ الخزعة بطريقة الفرشاة (Brush Cytology) أو من الممكن استخدام زرقة التوليدين (Toluidine Blue) التي تصبغ الأحماض النووية والنسج غير الطبيعية حيث يستخدمها الجراحون في تحديد حواف القطع. ترجح بعض الدراسات كطريقة لكشف الآفات قبيل السرطانية. تقول إحدى الدراسات أنه طريقة حساسة لكشف السرطانات البشرية (Carcinoma) وليس سوء التصنع (Dysplasia) (Nair et al., 2012) (Warnakulasuriya and Johnson, 1996).

إضافة إلى طرائق أكثر تطوراً مثل التصوير النسيجي التآلقي المناعي (Tissue Fluorescence Imaging) والدراسة بطريقة سلسلة التفاعل البلمرة (PCR) وسلسلة تفاعل البلمرة بالزمن الحقيقي (RT-PCR).

السرطانات البشرية في الحفرة الفموية:

تعد سرطانات الحفرة الفموية من المشاكل الأساسية في العالم، وتتنبأ منظمة الصحة العالمية باستمرار انتشارها وارتفاع عدد المصابين بها سنوياً. أضافت كذلك أن انتشاره الأساسي الأول في دول آسيا الجنوبية فيما تشكل الإصابة 2% فقط من السرطانات في كل من الولايات المتحدة والمملكة المتحدة. ويشكل السرطان شائع الخلايا 90% من هذا السرطانات. (Akhter et al., 2011)

(2011)

السرطان شائك الخلايا الفموي:

ارتبطت الإصابة بالسرطان شائك الخلايا قديماً بإصابة الأشخاص ذوي الأعمار المتقدمة والرجال غالباً لأسباب تعود أساساً إلى التدخين وتناول الكحول. تُظهر الدراسات الحديثة ارتفاع نسبة الإصابة لدى الشباب (أصغر من 40 عام) وربطت الدراسات بين الإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي وفرط تناول الكحول. تكون نسبة الإصابة عند الذين يدخنون ويتناولون الكحول أعلى بـ 38 مرة منها عند غير المدمنين. حيث تحدث طفرات في المورثة الحارسة للجينوم P53 عند المدخنين وشاربي الكحول أكثر منها عند المدخنين فقط، كما وتشير الدراسات الحديثة إلى الارتباط الوثيق بين الإصابة وإيجابية الفيروس الحليمي البشري HPV خاصة النمط 16. هذا ما أكدته دراسة Deyhimi وأضافت أن الـ Ki67 يعد من الواسمات الانقسامية للخلية الذي يعتبر مع الـ PCNA من أهم الواسمات الكيميائية المناعية النسيجية لتحديد النشاط الانقسامي للخلايا. لم تجد بعض الدراسات فروقاً في تعبيره بين الدرجات المختلفة للسرطان (Zygianni et al., 2011). (Deyhimi et al., 2013)

تم رصد الـ Ki67 في دراسات أخرى، في كل درجات السرطان شائك الخلايا الفموي وكان مرتبطاً بدرجة سوء التصنع ودرجة تمايز السرطان، وسُجلت قيم تعبيرية عالية في حالات الغزو الورمي وهذا ما توافق في الأدب الطبي مع ارتفاع تعبيرية هذا الواسم مع السلوك العدائي للورم (Dragomir et al., 2012).

تصنيف السرطان شائك الخلايا:

يعد التصنيف النسيجي للسرطان شائك الخلايا معياراً هاماً للتنبؤ بالسلوك السريري والإنذار. يترافق غزو العقد البلغمية مع إنذار سيء بالنسبة لسرطانات الحفرة الفموية. لكن يبقى التصنيف السريري الأكثر أهمية في تحديد إنذار الورم من التصنيف النسيجي (Histologic grade) (Neville, 2002).

يعطي تصنيف ⁴ TNM لمحة عن إنذار السرطان لكنه لا يعد تصنيفاً كافياً وإنما يحتاج طرماً دامة أخرى. (Akhter et al., 2011; Anneroth et al., 1987)

وضع Broder عام 1920 تصنيفاً يعتمد على نشاط السرطان وصنفه إلى قليل ومتوسط وعالي التمايز (High, Moderate and Poor differentiated) لكنه لم يكن وثيق الترابط مع الإنذار. (Akhter et al., 2011; Anneroth et al., 1987)

طور Jacobsson عام 1973 تصنيفاً يُقيم بدقة أكثر إمكانية نمو الورم في الرأس والعنق. (Akhter et al., 2011; Jakobsson et al., 1973)

وانبثق عن هذا التصنيف تصنيفاً آخر معدل لكل من Anneroth و Hansen. (Anneroth and Hansen, 1984)

⁴ تصنيف TNM: تشير T إلى الورم Tumor وامتداده السريري و N إلى العقد البلغمية Lymph Node و M إلى الاستعمار Metastasis

تشير الدراسات إلى أن تصنيف Broder لا يوجه الطبيب في وضع الإستراتيجية العلاجية. وأن هناك طرائقاً حديثة مثل مشعر الانقسام و Ki67 يُفضل استخدامها كمؤشرات إنذارية. (Shingaki et al., 1988, Akhter et al., 2011)

من هنا اعتمد تصنيف Anneroth الذي يعد طريقة معيارية في تصنيف السرطان شائك الخلايا الفموي (الجدول رقم 1). يتميز هذا التصنيف أنه جيد الفهم ونتائجه أكثر دقة ويعطي تقيماً إنذارياً جيداً ويوجه الجراح نحو وضع خطة العلاج المناسبة. يتألف التصنيف من ستة متغيرات نسيجية ذات قيم متساوية لتحديد درجة الخباثة، ترتبط ثلاثة منها مع تكاثر الخلايا الورمية وترتبط ثلاثة أخرى مع نمط الغزو والاستجابة المناعية. (Akhter et al., 2011)

درجة الخباثة النسيجية في الخلايا الورمية النقاط				المقياس الشكلي
4	3	2	1	
لا يوجد تقرن (0-5% من الخلايا)	منخفض (5-20% من الخلايا)	متوسط (20-50% من الخلايا)	عالي (أكثر من 50% من الخلايا)	درجة التقرن
شديد (0-25% من الخلايا ناضجة)	عالي (25-50% من الخلايا ناضجة)	متوسط (50-75% من الخلايا ناضجة)	قليل (75% من الخلايا ناضجة)	تعدد أشكال النوى
أكثر من 5	4-3	3-2	1-0	عدد الانقسامات
درجة الخباثة النسيجية نسبة إلى مكان انتقال الورم النقاط				المقياس الشكلي
4	3	2	1	
انتشار خلوي واسع وملحوظ	الخلايا المرتشحة تشكل مجموعات من الحبال	ارتشاح بشكل شرائط وحزم	توسعي لكنه ذو حدود فاصلة	نمط الغزو
غزو يشمل معظم النسيج الضامة المجاورة وعظم الفكين	غزو يتجاوز الصفيحة الخاصة إلى العضلات والغدد اللعابية المجاورة دون أن يصل إلى السمحاق	غزو يمتد إلى حدود الصفيحة الخاصة فقط	سرطان موضع أو يشك بالغزو	درجة الغزو
لا يوجد	قليل	متوسط	ملحوظ	الارتشاح البلاسمي اللمفي

الجدول 1 تصنيف Anneroth للسرطان شائك الخلايا الفموي

ثم يتم جمع النقاط وتحديد الدرجة النسيجية وفق الجدول التالي:

النقاط	الدرجة
10-5	درجة أولى
15-11	درجة ثانية
20-16	درجة ثالثة
أكثر من 20	درجة رابعة

الجدول 2 يوضح الدرجات النسيجية حسب مجموع النقاط

علاج السرطان شائك الخلايا:

تتم عملية علاج الأورام الخبيثة حالياً من قبل فريق عمل متكامل من جراحين ومعالجين ورميين ومعالجين شعاعيين ومعالجين فيزيائيين. وبما أن السرطان شائك الخلايا أكثر السرطانات شيوعاً التي تصيب الحفرة الفموية تظهر هنا أهمية متابعة المرضى المصابين ووضع خطط العلاج الدقيقة والمناسبة. أثبتت الدراسات فاعلية العلاج الشعاعي والعلاج الكيماوي باستخدام الـ Carboplatin والـ Mitomycin. ويحدد الطبيب المعالج طبيعة العلاج جراحياً كان أو جراحياً بالمشاركة مع العلاج الشعاعي والكيماوي، وذلك بعد إجابته عن مجموعة من الأسئلة وهي إمكانية إزالة كامل السرطان أو جزء منه وما تأثير العمل الجراحي على حياة المريض، وهل المريض مقتنع بالعلاج المقدم له، وأخيراً قدرة وكفاءة الطبيب على إتمام العمل العلاج بالصيغة الأمثل (Akhlaghi et al., 2014).

تُقدم العلاجات التخفيفية (Palliative) عندما يكون السرطان غير قابل للشفاء أو عندما يكون المريض غير مؤهل للتعرض للعمل الجراحي. غالباً ما يُوصى بالعلاج الجراحي بالتزامن مع الشعاعي أو بالجراحي ويليه الشعاعي، فيما تتجه الأبحاث نحو طرق علاج حديثة مثل العلاج

بالضوء الديناميكي (Photodynamic therapy) ويقوم على حقن الوريد بمادة حساسة للضوء تكون نوعية للخلايا السرطانية، ثم يُعرض الورم لضوء بطول موجة معين، ويحدث عندها تفاعل كيميائي ضوئي، حيث تتفاعل المادة الحساسة للضوء مع الأوكسجين، وتسبب موت الخلايا السرطانية. تشير دراسات حديثة أخرى إلى طرق علاج نوعية تقوم على إحداث الموت الخلوي المبرمج في تلك الخلايا السرطانية (Spencer et al., 2002).

تغير منحنى معالجات السرطانات في الآونة الأخيرة من استخدام العقاقير السامة نسبياً وغير النوعية، نحو استخدام علاجات نوعية معتمدة في تأثيرها على الآلية التي يحدث فيها السرطان. ففي حين يقوم العلاج الكيماوي على قتل جميع الخلايا التي تنقسم بسرعة دون التمييز هل هي خلايا سرطانية أم لا، اتجه العلم اليوم نحو العلاج الموجه Targeted therapy والعلاج المناعي immunotherapy. يعتمد العلاج الموجه على القضاء على السبل الجزيئية داخل الخلية الأساسية التي تعتمد عليها الخلايا السرطانية في تكاثرها ونموها. فيما يسعى العلاج المناعي إلى تعزيز مناعة المريض التي تدمر السرطانات طويلة الأمد. من الممكن أحياناً دمج طريقتي العلاج معاً للحصول على أفضل النتائج السريرية. يعود أصل العلاجات الموجهة إلى فكرة الرصاصة السحرية التي أطلقها Paul Erlich في القرن التاسع عشر 1800s عندما وصف مواد كيميائية نوعية في قتل المتعضيات الدقيقة. تلاه في القرن العشرين تطوراً ملحوظاً في البيولوجيا الجزيئية وما رافقه من فهم لآليات نشوء الورم وتطوره. وظهر بالتالي العلاج الموجه بمجموعتين اثنتين: الأضداد وحيدة النسيلة والكابحات صغيرة الوزن الجزيئي. (Imai and

(Takaoka, 2006

تستهدف العلاجات الموجهة أهدافاً على سطح الخلية أو داخلها، ومن هذه الأهداف مستقبلات عوامل النمو وجزيئات سبل الإشارة داخل الخلية signaling molecules والبروتينات المسؤولة عن دورة حياة الخلية ومنظمات الموت الخلوي المبرمج والجزيئات المرتبطة بالغزو والتشكل الوعائي. على الرغم من هذه الانتقائية العالية في العلاجات الموجهة إلا أنه تظهر في بعض الحالات أعراضاً جانبية غير متوقعة. (Sawyers, 2004)

الطب المكمل والطب البديل:

يعرف الطب البديل والمكمل (Complementary and Alternative Medicine, CAM) على أنه مجموعة من المنتجات والأنظمة المتنوعة للرعاية الصحية والطبية، التي لا تعد جزءاً من العلاج التقليدي. يستخدم حوالي 93% من مرضى السرطان الطب البديل والطب المكمل خلال تجربتهم مع السرطان. يستخدم هذا النوع من الطب مرضى السرطان في الحالات المتقدمة للتخلص من معاناتهم الشديدة مع المرض. يضم هذا الفرع من الطب خمس مجموعات وهي :

- أ. المجموعات التي تعتمد على علاج الجسد (المساجات)
- ب. المجموعات التي تعتمد على الجسد والفكر (التأمل والاسترخاء)
- ج. المجموعات التي تعتمد على الطاقة (الوخز بالإبر)
- د. المنتجات العضوية الطبيعية (الأعشاب والفيتامينات)
- هـ. أنظمة العلاج الشاملة مثل الاستشفاء بالطبيعة (Naturopathy)

يتبع استخدام المرضى لهذه الوسائل مجموعة من الضوابط منها توفر الطرق نفسها والحالة الاقتصادية للمريض . ويعود السبب في لجوء المرضى لهذه الوسائل لفوائدها المباشرة وغير المباشرة في علاج السرطان، إضافة إلى مجموعة فوائد أخرى منها تخفيف التوتر النفسي وتحسين الحالة الصحية عموماً وتحسين نوعية الحياة.

ما زالت بعض الدوريات تهاجم وبشدة كل سبل العلاج البديل والتكاملي وتعدده من الطرق غير المثبتة علمياً، إضافة إلى الدوريات النظرية التي بحثت في مجموعة من التجارب السريرية ووجدت عدم فعالية تلك الطرق من فيتامينات وأعشاب ومستخلصات (Vickers, 2004, Vickers et al., 2006).

إن يُستخدم الطب البديل والمكمل للحد من الرض النفسي المرافق للأمراض ولتخفيف الآلام والأعراض الجانبية المرافقة للأمراض. يواجه الأطباء الممارسين للطب البديل معارضة حادة من الأطباء التقليديين والباحثين في مجال الطب المسند إلى الدليل، حيث يستندون إلى ضعف الأدلة التي تدعم هذا النوع من العلاجات. (2002c, Owens, 2015).

يستخدم 40% تقريباً من البالغين في الولايات المتحدة الأمريكية العلاج البديل والمكمل حسب استطلاع لمنظمة الصحة العالمية، و70% سوف يستخدمون هذا النوع من العلاجات خلال حياتهم (Barnes et al., 2008).

يعد استخدام المنتجات الطبيعية أكثر أنواع العلاجات المكملة شيوعاً ويلبيها تقنيات التنفس والتأمل. كما يستخدم البعض المكملات الغذائية مثل الأوميغا 3 (omega-3)، والفيتامينات والمعادن للحفاظ على صحة عامة جيدة (Bailey et al., 2013).

خضع القليل فقط من طرق العلاج المكمل والبديل إلى دراسات صارمة. يعتبر عدد قليل جداً منها فقط علاجاً مكماً بالفعل، بمعنى أنها تردف العلاج التقليدي وتساعد في دعم مناعة المريض وتعزيز عملية الشفاء السريع.(2002c, Shim, 2015) .

ومن الدراسات التي جرت في قسم التشريح المرضي الفموي في جامعة دمشق، دراسة د.أنس رباطة التي تناولت الفيتامين D الفعّال كمكمل غذائي، ودوره في الوقاية من السرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث في الجيب الخدي للهامستر، واستنتجت هذه الدراسة أن لهذا الفيتامين فعالية مضادة للتكاثر الخلوي (تبينت من خلال انخفاض تعبيرية PCNA⁵) وكذلك دوره في كبح الورم (ظهر من خلال انخفاض تعبيرية P53 الطافر) إضافة إلى تحريض الموت الخلوي المبرمج (من خلال انخفاض تعبيرية BCL-2 في النسيج الورمية مقارنة مع السليمة).خلصت الدراسة إلى أن الصيغة الفعالة من الفيتامين D المستخدم كمكمل غذائي أدت إلى تأخير ظهور السرطان حتى الأسبوع العاشر لدى حيوانات التجربة.(1)

الأميجدالين:

يعد الأميجدالين واحداً من العلاجات البديلة للسرطان (المنتجات العضوية الطبيعية)، وجاء انتقاء الأميجدالين كعلاج نظراً إلى انقسامه الانتقائي في الخلايا السرطانية، وتحريره مادة السيانيد السامة، دافعاً بها بدوره إلى الاستموات بسبب كبح التحلل الهوائي للغلوكوز داخلها. يدعم هذه الفرضية العديد من الدراسات التجريبية الداعمة التي سنأتي على ذكرها. أما سريرياً أثبتت بعض الدراسات عدم فعالية الأميجدالين لما يحمله تفكك مادة السيانيد من خطورة سمية عالية على

⁵ الـ PCNA ويعد مشعراً للانقسام الخلوي وهو ملون غشائي

العضوية، فيما أكدت دراسات أخرى فعاليته الأكيدة في الشفاء من السرطان بحكم تحريره النوعي لمادة السيانييد في الخلايا السرطانية.

تعريفه:

يستخدم مصطلح الأميجدالين للإشارة إلى المادة المستخلصة من بذور الـ Armeniacae semen والذي يشير إلى المادة الطبيعية الموجودة في بذور المشمش واللوز المر خاصة، والتي تحرر مادة السيانييد. يعد الأميجدالين من عائلة النتريلوزيدات Nitrilosides (وهو اسم عام يُطلق على beta-cyanophoric glycosides)، وهي مجموعة كبيرة من المواد توجد في بعض النباتات وتتصف أنها منحلة في الماء و تحوي الغلوكوز) ، المحررة للسيانييد (الشكل 7-1))، توجد في بذور بعض النباتات مثل المشمش واللوز والدراق والخوخ وغيرها من النباتات التي تنتمي إلى فصيلة (Rosaceous plants). وجد له الكثير من التأثيرات العلاجية مثل خفض الحرارة وتخفيف الألم وعلاج التهابات مثل التهاب القصبات والمفاصل وغيرها وعلاج الربو والجذام والسرطانات (Chang et al., 2005)(Ellison et al., 1978)(Newton et al., 1981)

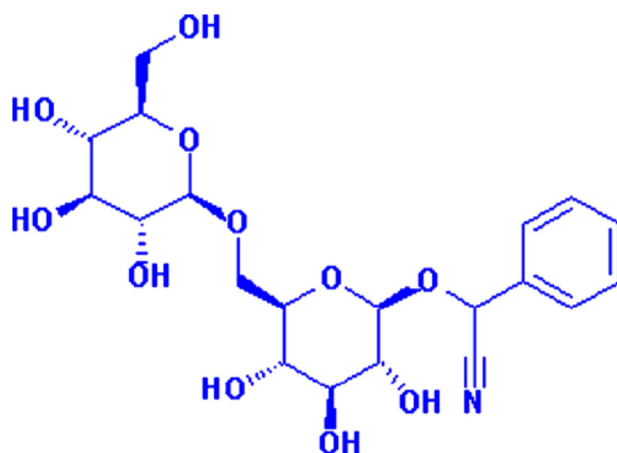
الخواص الكيميائية والفيزيائية:

الخواص الفيزيائية والكيميائية:

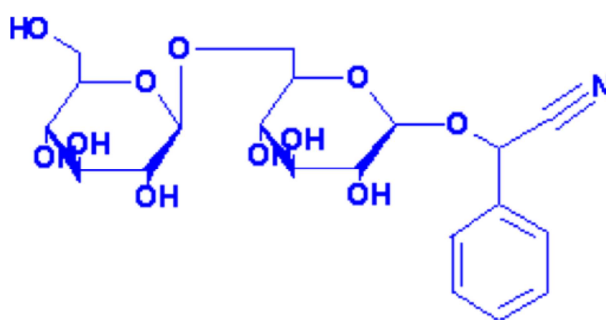
يأخذ ترتيباً دائرياً للديكستروز (R Dextrorotary configuration) (الشكل 7-1). تعتبر هذه الصيغة الفعالة للمركب. أما Neo-amygdalin(S) فهو المماكب (isomer) غير الفعّال ولا توجد هذه الصيغة في الطبيعة (الشكل 8-1).

يُطلق على الأميجدالين الاسم الكيميائي (D-mandelonitrile β -glucuronide)، وصيغته **C₂₀H₂₇NO₁₁**. يبلغ الوزن الجزيئي له 457,42848 غ/مول. يتركب من (D-) **Sauer et al., (Milazzo et al., 2006) (mandelonitrile β -gentiobioside** (2015).

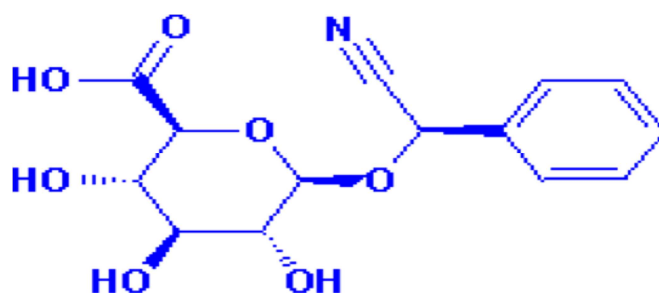
يختلف الأميجدالين عن الـ Laetrile، هناك لغط بين مصطلح Laetrile (الشكل 9-1)، والذي يتركب من mandilonitrile – β - glucuronide والأميجدالين المصنع في المكسيك والذي يستخلص من بذور المشمش، madilonitrile-beta-D-gentiobioside، لكن يحوي كلا المركبين على زمرة الـ madilonitrile المحررة للسيانيد. حيث تفترض الدراسات أن السيانيد مركب قاتل للخلايا السرطانية وكذلك تحتوي هذه المركبات على البنزالدهيد الذي يكبح الخلايا السرطانية. يتفكك الأميجدالين بوجود إنزيم بيتا غلوكوزيداز أو بعملية الانحلال المائي Hydrolysis ليعطي غلوكوز وبنزالدهيد وسيانيد الهيدروجين HCN (Newmark et al., 1981)(Li et al., 2002)(Makarevic et al., 2014b).



الشكل (1-7) الأميجدالين R (C2--H27-N-O11) (Milazzo et al,2011)

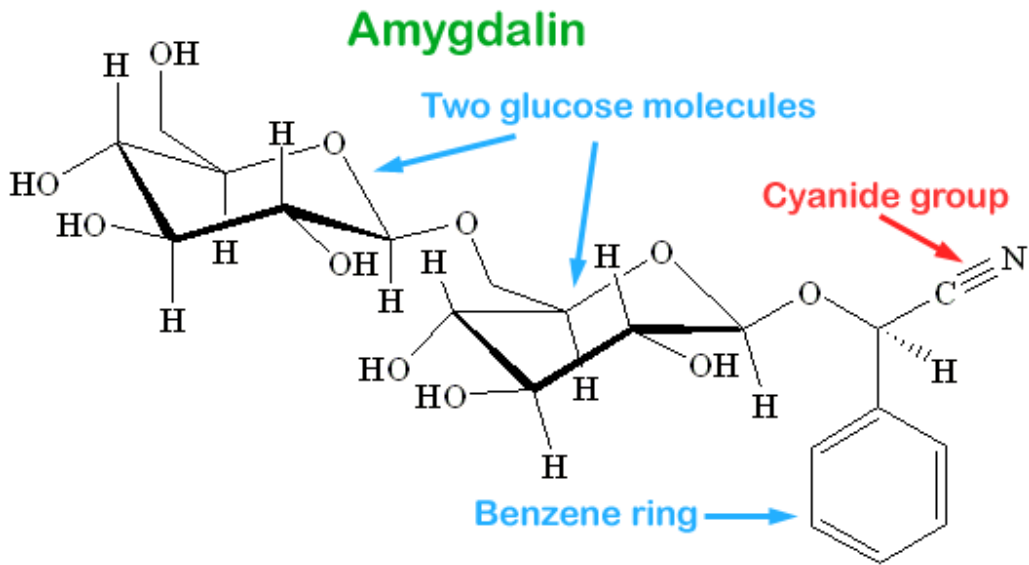


الشكل (1-8) Iso-amygdaline (Milazzo et al,2011)



الشكل (1-9) Laetrile (Milazzo et al,2011)

ينشط الأميجدالين (D-mandelonitrile- β D-glucoside-6- β glucoside) بوجود أنزيم بيتا-غلوكوزيداز β -glucosidase ليعطي جزيئي غلوكوز وجزيء بنزالدهيد وجزيء هيدروجين السيانيد HCN (الشكل 10-1)، لا يوجد هذا الأنزيم داخل الخلايا السليمة عند الإنسان، لذلك لا يؤدي ابتلاع بذور المشمش أو اللوز إلى تحرير كمية كبيرة من السيانيد. ويتم تحليل هذا المركب بشكل أكبر في الأوساط القلوية منها في الحمضية فهو لا ينشط بالتالي في المعدة بسبب حموضة الوسط وإنما يتم تفاعل الانشطار هذا في الأمعاء (Suchard et al., 1998).



الشكل (9-1) يوضح تفكك الأميجدالين إلى المكونات الأساسية المكونة له (Suchard et al., 1998).

يقوم أنزيم بيتا-غلوكوزيداز بتسريع تحليل الأميجدالين، ويوجد بكميات كبيرة في النسيج السرطانية مقارنةً بالسليمة، فيما يقوم أنزيم آخر هو الروداناز Rhodanase على تحليل مادة

السيانيد إلى ثيوسيانات، وعلى العكس من السابق يوجد بكميات كبيرة في النسيج السليمة مقارنة بالسرطانية (Greenberg, 1980).

خواص السيانيد:

يعد السيانيد مركباً منخفض الوزن الجزيئي، ويرتبط مع السيتوكروم C في الميتوكوندريا الحيوية مُنْبِطاً عملية الفسفرة التأكسدية. أما هيدروجين السيانيد HCN فهو مركب ذو حموضة منخفضة ومنخفض الوزن الجزيئي إضافة إلى كونه مركباً غازياً لكنه منحل في الماء ومتوسط الحلولة في الشحوم أو الدسم وهذا ما يمكنه بالتالي من العبور السريع للأغشية وصولاً إلى الميتوكوندريا الحيوية.

ينظم السيانيد التفاعلات البيولوجية في النباتات، حيث أنه يلعب دوراً في حماية النباتات من الإصابات الطفيلية والفيروسية. وجدت الأبحاث عند دراسة السيانيد خارجي المنشأ أن النباتات تنظم تركيز السيانيد بحيث يبقى دون التركيز السام. يوجد في الخلية مركب هو mitochondrial β -cyanoalanine synthase (CAS) CYS-C1 ، الذي يستخدم السيستين cysteine للتخلص من الأثر السام السام للسيانيد من خلال تحويل السيانيد والسيستين إلى β -cyanoalanine و hydrogen sulfide (H_2S) .

يعاكس هيدروكسي الكوبالامين hydroxocobalamin الأثر السام للسيانيد ويعد من أهم المضادات لأثر السيانيد استخداماً عند الإنسان. (Garcia et al., 2014)

ينتج عن استقلاب السيانيد الثيوسيانات المنحلة من خلال إنزيم الرودانااز الذي يسهل تنظيف الجسم بهذه الطريقة من الأثر السمي للسيانيد (1993) هناك طريق آخر للتخلص من السيانيد وهو دمج السيانيد مع الكوبالت وتشكيل السيانو كوبالامين (Cyanocobalamin) (Megarbane et al., 2003).

طرق استخلاص الأميجدالين:

ينحل الأميجدالين في الماء والإيثانول بسهولة. يتم استخلاص الأميجدالين من خلال الماء المغلي. يُستخدم لاستخلاص الأميجدالين تقنية الأمواج فوق الصوتية (Ultrasonic) أو تقنية Soxhlet (باستخدام محلول الميثانول وذلك لأن الأميجدالين يتفكك إلى مركبات هيدروجين السيانيد والغلوكوز بالاستحلاب (Emulsion) ويتحول بعضها إلى مبلمرات أخرى مثل (neoamygdalin;L-mandelonitrile-β-D-gentiobioside) وذلك بتقنية الماء المغلي (Lv et al., 2005)

وُضعت طريقة لمنع عملية التحول سابقة الذكر وذلك عن طريق تعديل باهاء (PH) الوسط، من خلال إضافة حمض الليمون بتركيز 0,01% للماء المغلي، ونتجنب بالتالي خسارة مكونات الأميجدالين (Hwang et al., 2002).

هناك العديد من الطرق لاستخلاص الأميجدالين :

1. الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية Ultrasonic extraction

تُطحن حبوب المشمش إلى أجزاء صغيرة، ثم ينقع مقدار 2 غ منها في 10 مل ميثانول ويوضع في جهاز الأمواج فوق الصوتية مدة 30 دقيقة. تُعاد العملية مرتين. ثم يرشح الناتج ويتم تمديده إلى حجم 25 مل.

2. Soxhlet extraction

توضع الحبوب المطحونة (6 غرامات) في جهاز الـ Soxhlet في محول 100 مل من الميثانول مدة خمس ساعات، ضمن حمام مائي بدرجة حرارة 70 درجة مئوية. يتم تمديد الناتج إلى 100 مل.

3. الاستخلاص بالارجاع Reflux extraction

يتم نقع 6 غرامات من الحبوب المطحونة في 100 مل من الماء مع 0,1% من حمض الليمون مدة ساعتين ونصف ضمن حمام مائي بدرجة حرارة 60 درجة مئوية، ثم يتم ترشيح الناتج وينتج سائل مع رشاحة. يتم حل الرشاحة في 100 مل ماء مع 0,1% من حمض الليمون وتكرر العملية السابقة. يمدد السائلين بالنتيجة إلى حجم 200 مل. (Lv et al., 2005)

لمحة تاريخية حول الأميجدالين:

عُزلت مادة الأميجدالين بداية من قبل عالمي الكيمياء الفرنسيين Robiquet و Boutron عام 1837، سُميت آنذاك Emulsin من قبل Liebig و Wöhler . كانت بدايات استخدامه كعلاج للسرطان في الولايات المتحدة عام 1920 وفي روسيا عام 1945، و أُعلن استخدامه

كعقار آمن في الحقن الوريدي وسمي كبراءة اختراع في عام 1950 باسم Laetrile. لكن تبين أن المنتج المصنع في المكسيك لا يتوافق مع المعايير الدوائية في الولايات المتحدة. استمر المرضى في الولايات المتحدة رغم ذلك باستخدام هذه الطريقة العلاجية. (Dorr and Paxinos, 1978).

هذا ما دفع بالمعهد الوطني للسرطان NCI بتقصي فعاليتها ووجدوا استجابة للعلاج وشفاء في 6 حالات فقط من أصل 22 حالة. قامت منظمة الغذاء والدواء FDA وقتها بمنع استخدامه. (Ellison et al., 1978).

عادت 23 ولاية عن هذا القرار عام 1980، وسمحت باستخدامه لعلاج مرضى السرطان في الحالات الانتهازية (Curran, 1980).

بعد سلسلة من الأبحاث منع استخدامه في الولايات المتحدة وأوروبا عام 1987. فيما عُدّ الأميجدالين في المملكة المتحدة عقاراً دوائياً لا يُصرف إلا بموجب وصفة دوائية. (Milazzo et al., 2007)(a1991)

النظريات التي تفسر فعالية الأميجدالين:

هناك أربع نظريات تفسر فعالية الأميجدالين وهي:

1. يتفكك الأميجدالين في الخلايا السرطانية بفضل إنزيم بيتا-غلوكوزيداز ويحرر السيانييد القاتل لتلك الخلايا، كما ذكر سابقاً، بينما يغلب في خلايا الأنسجة السليمة إنزيم آخر الروداناز Rhodanase الذي يفكك السيانييد المتحرر من تحلل الأميجدالين إلى

مركب أقل سمية هو الثيوسيانات، لكن بعض الدراسات نفت هذه التفسير لأنها افترضت أن النسبة بين الإنزيمين ثابتة في الخلايا الورمية والخلايا السليمة (Bernacki et al., 1985)(Cheng et al., 2005).

2. تقول بعض النظريات أن السرطان ينشأ من خلل استقلابي ناتج عن عوز إنزيمي، وإن الأميجدالين هو الإنزيم الذي تفتقده الأنسجة لتستعيد صحتها. تدعم الدراسات النظريات التي تقول بفعالية الفيتامينات في الحفاظ على الصحة لكن البعض الآخر منها نفى دور الأميجدالين كواحد من هذه الفيتامينات (Young and Newberne, 1981).

3. يرفع السيانيد مستوى الحموضة في الخلية السرطانية وهذا ما يدمر الجسيمات الحالة محررة محتواها مما يقتل الخلايا السرطانية ويحجز تكاثرها. (Greenberg, 2002)(Chang et al., 2006)(1980)

4. أكدت الدراسات على علاقة الأميجدالين بالمورثات المسؤولة عن تنظيم دورة حياة الخلية، خاصة الكيناز المعتمد على السيكلين (cyclin-dependent kinase) الذي يحفز الانقسام الخلوي ويعاكسه عائلة الكوابح للكيناز المعتمد على السيكلين، التي تثبط الانقسام الخلوي. وجدت الدراسات معدل الكوابح خاصة p27 و p57 بمعدل 8 أضعاف وذلك في الخلايا المعالجة بالأميجدالين مقارنة مع العينة الشاهدة غير المعالجة، وكانت تعبيرية الـ cell division cycle 25 A وبعض السيكلينات مثل cyclin E1 أخفض أربعة مرات في الخلايا المعالجة بالأميجدالين مقارنة مع العينة الشاهدة. يبدي سمية الأميجدالين حسب

الدراسات سمية نوعية في الخلايا السرطانية وخاصة بتركيز 2,5 و 5 مغ/ مل
(Makarevic et al., 2014a).

5. أوضحت فرضيات أخرى أن سمية السيانييد (الذي يعد تحلل الأميجدالين أحد مصادره) تنتج عن أنه يكبح التنفس الهوائي في المتقدرات من خلال ألفته العالية للسيتوكروم C, المفتاح الرئيس في التنفس الخلوي، وبالتالي تنقلب الخلية من التنفس الهوائي إلى التنفس اللاهوائي وينضب الـ ATP داخلها ويتراكم حمض اللبن وتتموت الخلية وبالتالي النسيج. يعمل السيانييد على كبح التنفس الخلوي في المتقدرات، إذ يعد من الكوابح الأنزيمية غير العكوسة حيث ترتبط ذرة السيانييد مع ذرة الحديد في أنزيم cytochrome C oxidase وهذا ما يحيد عمل الأنزيم مانعاً نقل الإلكترون منه إلى الأوكسجين وتتعلل بالتالي سلسلة نقل الإلكترونات في المتقدرات، ولا تعود الخلية بالتالي قادرة على التنفس الهوائي وإنتاج الـ ATP اللازم لتصنيع الطاقة. (Pham et al., 2007).

6. يقوم الأميجدالين بتحريض الموت الخلوي المبرمج بالطريق الداخلي، أي من خلال التأثير في دورة حياة الخلايا السرطانية. تختلف طريقة التأثير على الخلايا السرطانية ودفعها للموت باختلاف نوع النسيج، حيث يقوم الأميجدالين بتحريض الموت الخلوي المبرمج من خلال تفعيل مورثة P53 وخفض تعبيرية الـ BCL2 كما في سرطان الثدي، أو أنه يعتقل دورة حياة الخلية كما في سرطان الكولون (Chen et al., 2013).

7. تقول إحدى الدراسات الحديثة أن الأميجدالين عبارة عن مركب غير فعال، يتحول إلى الصيغة الفعالة في الخلايا السرطانية، وهذا ما يُعرف بالعلاج الإنزيمي الموجّه للأضداد: Antibody-directed enzyme prodrug therapy. تتفاعل المادة العلاجية (الضد) مع مستقبلات على سطح الخلايا السرطانية (مستضدات)، ثم ترتبط بالإنزيمات في الخلايا السرطانية لتشكل معقد إنزيم-ضد. بعد حقن المادة العلاجية، يقوم الإنزيم بنقل المادة العلاجية لداخل الخلية السرطانية حيث تتحول إلى الصيغة الفعالة المضادة للسرطان. تمتاز هذه الطريقة بزيادة تركيز المادة العلاجية في مكان السرطان تماماً. إذن يعد الدواء غير فعال إلا بوجوده في الخلايا السرطانية حيث يرتبط بالإنزيمات المسؤولة عن تفعيله (Li et al., 2015).

استخداماته في الأدب الطبي:

اتجهت بعض الدراسات للبحث في فعالية الأميجدالين في الحداثيات الالتهابية. وجاءت نتيجة بعض إحدى التجارب أن الأميجدالين يكبح تركيب البروستاغلاندين E2 وإنتاج NO من الجذور الحرة)، وذلك عن طريق كبح تعبيرية السيكلوأكسجيناز-1 و iNOS والمحدث بعديدات السكريد الشحمية LPS، وذلك في خلايا الدبق الصغير لدى الفئران. كانت نتيجة التجربة أن الأميجدالين يلعب دوراً هاماً في التخفيف من الألم ويمكن عده مضاداً للالتهاب (Yang et al., 2007).

تبين في دراسة على فئران التجربة عُنت بدراسة أثر الأميجدالين على الجهاز الهضمي، أن الأميجدالين يثبط فعل الببسين مؤثراً على الفعالية الهضمية. تبين في التجربة أن مستخلص

الأميغدالين بتركيز 500 ملغ/كغ كان قادراً على علاج القرحة المعدية والتهاب الأمعاء الضموري. يعد كذلك قادراً على كبح تكاثر النسيج الليفي في الكبد لدى الفئران المستحدث لديها التهاب الكبد بمادة رباعي كلور الكربون, CCL4 وتقوم آلية عمله على كبح الخمائر الكبدية الـ AST والـ ALT مباشرةً، دون التأثير على D-galactosamine المسؤول عن ارتفاع تركيز الخمائر السابقة. أما أثره المضاد للالتهاب وتخفيف الألم تعود إلى أنه يكبح البروستغلاندين Prostaglandin E2، وكبح تركيب أكسيد النتريت Nitric oxide وذلك من خلال تعطيل سبيل عديدات السكريد الشحمية (Song and Xu, 2014). (LPS: LipoPolySaccharide)

أجريت دراسة عام 2008 حول تأثير الأميغدالين المسكن والمضاد للالتهاب وذلك في التهاب المفاصل المحدث في كاحل الفئران وفي نائل خلوية محرضة بعديد السكريد الشحمي PLS. كانت جرعات الأميغدالين المستخدمة 0,005 و 0,005 و 0,1 مغ اكغ من وزن الفئران وأعطيت بالحقن العضلي مباشرة بعد تحريض التهاب المفاصل. قُيِّم في هذه الدراسة ثلاث واسمات للالتهاب والألم (IL-1 beta, TNF-alpha, c-Fos) لوحظ تراجع أعراض الألم عند جرعة تطبيق مساوية للـ 0,005 مع، وكانت تراكيز الواسمات السابقة في الحدود الدنيا. ولم يلاحظ تراجع الأعراض الألمية مع ارتفاع تركيز الأميغدالين (Hwang et al., 2008).

يعد داء الصدف من الأمراض الالتهابية المزمنة مجهولة السبب وواحداً من أمراض المناعة الذاتية المتواسطة بالخلايا التائية المساعدة من النمط الأول, TH-1 ويتظاهر نسيجياً بفرط تقرن وفرط تصنع بشروي إضافة لرقعة الحليمات أو ثخانتها مع اختفاء الطبقة الحبيبية والتوسع الوعائي

والارتشاح بالكريات البيضاء وتشكل الخراجات في الأدمة (Tohyama et al., 2009).

تناولت إحدى الدراسات أثر الأميغداين الكابح للانترفيرون غاما، ودوره في التالي في تخفيف الاستجابة الالتهابية في الخلايا البشرية (epidermal keratinocyte) وذلك في داء الصدف، حيث تفرز التائيات المساعدة الوسيط الالتهابي الانترفيرون غاما، وتعد الخلايا البشرية keratinocyte هدفاً له كونها تحمل على سطحها مستقبلاً لهذا العامل، والذي بدوره يحرض الخلايا على إفراز وسائط التهابية منها (ICAM-1 من جزيئات اللصق بين الخلوية) و IL-8 الذي يقوم بحشد الكريات البيضاء عند حدود البشرة. لم تسجل هذه الدراسة أي تأثير سمي للأميغداين على حيوية الخلايا البشرية، ولدراسة تأثيره المضاد للالتهاب طبق بعد أربعة وعشرين ساعة، ودُرس تأثيره على الإنترفيرون غاما وعامل التنخر الورمي ألفا، باستخدام تقنية PCR سلسلة التفاعل البوليميراز، ووجد أن هذان العاملان يفعلان الخلايا البشرية لتفرز IL-8, IL-6, IL23 الذين يحدون من تأثير الإنترفيرون غاما. (Paoletti et al., 2013).

استخدمت إحدى الدراسات الأميغداين لتحري أثره في تخفيف الألم المرافق لالتهاب المفاصل الرثواني Arthritic pain بعد إحداث هذا الالتهاب عند الجرذان وأثبتت النتائج فعاليته في تخفيف الألم والوذمة وبالتالي اعتبرته مرشحاً لأن يكون مضاد التهاب طبيعي من مشتق عشبي. وجاء كبح الالتهاب من خلال تثبيط عملية انتساخ عامل التنخر الورمي ألفا و IL-1 β في نقي العظام، وبالتالي كبح تحرير السيتوكينات المتدخلة في العملية الالتهابية. كانت جرعة الأميغداين

المستخدمة 0,005مغ /كغ. جرت هذه الدراسة في الزجاج IN VITRO وفي الحيوان IN

VIVO حسب الجرعات التالية :

IN VIVO: 0,0005 مغ /كغ وجرعة 0,001 مغ /كغ و 0,005 مغ/كغ وكانت الجرعة

الأخيرة هي الجرعة المثلى .

IN VITRO: 0.01 و 0,05 و 0,5 µm وكانت الجرعة 0,1 هي المثلى., (Hwang et al.,

2008).

سجلت إحدى الدراسات التراكيز السمية للأميجدالين عند فئران التجربة بطرق التطبيق الثلاثة،

الفموي والحقن الوريدي والحقن بالبريتوان كالتالي :

✓ الجرعة السامة بالطريق الفموي: 880 ملغ/كغ

✓ الجرعة السامة بطريق الحقن الوريدي: 25 ملغ/كغ

✓ الجرعة السامة بطريق الحقن في البريتوان: 8 ملغ/كغ (Song and Xu, 2014).

دراسة أثر الأميجدالين على حيوانات التجربة:

جاءت الأبحاث على القوارض والكلاب والقطط والأرانب وذلك في الدراسات التي أجراها

المعهد الوطني للأورام في سبعينيات القرن الماضي حول أثر الأميجدالين في العلاج وذلك

بالتطبيق حقناً بالبريتوان، سواء ترافق ذلك مع جرعات مرافقة من إنزيم بيتا غلوزيداز أو

دونه. وكانت الأورام متنوعة بين سرطانات هضمية وأورام صباغية خبيثة و أورام عظمية

وابيضاضات الدم. لم تستجب الأورام الصلدة أو ابيضاضات الدم للعلاج مهماً كانت الجرعة.

تفاوتت النتائج بين الدراسات فبينما لم تُظهر بعضها أية فعالية للعقار، ودراسات أخرى أثبتت العكس (Laster and Schabel, 1975).

في دراسة أخرى دعمها المعهد الوطني للسرطان كذلك حول تأثير العقار على الكريات البيضاء الدفاعية والخلايا السرطانية في البروستات. تبين أن العقار يحفز ارتباط الخلايا الدفاعية على سطح الخلايا السرطانية مما يعزز نظرية أن الأميجدالين يعزز قدرة الجهاز المناعي (Bhatti RA, 1981).

لم تظهر بعض التجارب التي أجريت على القوارض تلك الفعالية للأميجدالين في علاج السرطان، لكن لم تظهر لدى حيوانات التجربة أعراض تسمم ناتجة عن تناول العقار. يزداد تحرر السيانييد عندما اتباع حمية غذائية غنية بالفيتامين C، وعندما يرفق العلاج بتناول بذور المشمش واللوز الطازجة. (Greenberg, 1980)

ترتبط سمية السيانييد مع طريقة التطبيق حيث تكون جرعات السمية أعلى عند التطبيق الفموي وتكون أقل بالحقن البريتواني أو العضلي أو الوريدي. كونها تتعرض للتفكك أكثر بالطريق الفموي لوجود أنزيم بيتا غلوكوزيداز في الفلورا المعوية الطبيعية. تبين في هذا السياق في دراسة على مجموعتين من الفئران تلقت كل منهما العلاج بالأميجدالين، أعطى لواحدة منهما فقط جرعة الصاد الحيوي (Neomycin) قبل بدء العلاج. كان الهدف رصد عملية تنظيف الجسم من السيانييد من خلاله طرحه في البول بشكل ثيوسيانات، وتبين أن نسبة الثيوسيانات في بول فئران المجموعة التي لم تُعط الصاد الحيوي كانت أعلى بنسبة 40 مرة منها في

المجموعة التي تلقت الصاد، وهذا ما يشير إلى أنه يزداد تفكك وطرحاً للأميجدالين بوجود الفلورا

المعوية الطبيعية (Shils and Hermann, 1982)(Newton et al., 1981).

أجريت دراسة أخرى حول تأثير الأميجدالين على القوارض. كانت الدراسة على الجرذان

وكانت تراكيز الأميجدالين المستخدمة 250، 500، 750 مغ/كغ بالحقن ضمن البريتوان

يوماً على مدى 5 أيام، كانت نسبة الوفيات 33% و 44% و 56% بالتوافق مع النسب

السابقة على التوالي. (Khandekar and Edelman, 1979)

جرت إحدى التجارب على الكلاب حيث تم إدخال الأميجدالين (على شكل بذور من اللوز

والمشمش الطازجة) في الغذاء اليومي، وحقنوا جرعات من العقار بنسب مكافئة للتي تُعطى عند

الإنسان. توفي ست كلاب من أصل عشرة ونجا كلب واحد فيما عانى البقية من أعراض عصبية

مختلفة، والسبب ارتفاع نسبة السيانيد في الدم. حذرت الدراسة بالتالي من خطورة تناول البذور

الطازجة بالتزامن مع البروتوكول العلاجي (Schmidt et al., 1978).

الأميجدالين والدراسات عند الإنسان:

يستخدم العديد من المرضى حول العالم الأميجدالين كعلاج مضاد للسرطان. يوجد العديد من

الدراسات حول هذا التأثير، لكن بعضها يفتقر إلى وجود عينة شاهدة للمقارنة مع علاجات

أخرى أو علاجات وهمية Placebo. تكمن صعوبة الدراسات على البشر في غياب صيغة

موحدة تحكم طريقة التشخيص وفي إدخال طرق العلاج التقليدية مع العلاج بالأميجدالين أو

في إدخال المكملات الغذائية مع العلاج، إضافة إلى التنوع في الجرعات المستخدمة والفترات

الزمنية المتبعة، ومن هنا نتجت صعوبة تقييم مثل هذه الدراسات (Calabrese, 1979),
(Lewis, 1977)(b2002).

وجدت دراسة مقطعية على مرضى كانوا يشكون من استعمارات سرطانية، أن الأثر المباشر للأميجدالين كان يتجلى بالقضاء على الألم، إضافة إلى آثار أخرى مثل تراجع حجم الورم وتراجع اعتلال العقد اللمفية. تلقى معظم المرضى في الدراسات العلاج الشعاعي أو الكيماوي بالتزامن مع العلاج بالأميجدالين، وبالتالي كان هناك صعوبة في تحديد أيًا من العلاجات فعالاً. قام المعهد الوطني للسرطان NCI بتمويل الدراسات السريرية في المراحل الأولى والثانية وذلك بعد أن أبدى المرضى تجاوباً للعلاج بهذه المادة. تم في المرحلة الأولى دراسة الجرعة المطبقة وسبيل التطبيق وزمنه، وكانت النتيجة أن التطبيق الفموي والوريدي لم يترافق مع أعراض سمية إلا في حالتين لمريضين كانا يتناولان بذور اللوز المر أثناء العلاج. أما دراسات المرحلة الثانية تناولت نوع السرطانات التي تستجيب للعلاج بالأميجدالين وكان معظمهم من مرضى سرطان الرئة والكولون والثدي. اعتمد المعهد العلاج بالجرعات الوريدية مدة 21 يوماً ويليها جرعات داعمة بالطريق الفموي، وخضع جزء من المرضى لجرعات أكتف من الأميجدالين، وتلقى جزء آخر علاجاً داعماً قائماً على الفيتامينات وأنزيمات المعثكلة (metabolic therapy) ويتضمن العلاج الاستقلابي استبعاد الكافيين والسكر واللحوم ومنتجات الألبان من النظام الغذائي. تجاوب مريض واحد بشكل تام، فيما تراوحت النتائج الأخرى بين عدم تحسن وتقدم المرض أو شفاء وتراجع هذا التحسن في وقت لاحق. سُجل خلو تام من الأعراض لدى 25% من المرضى (a2002).

يساهم الفيتامين (C) في تفاعل الانشطار وهذا ما أشار إليه Bromely ، إضافة إلى أن هذا الفيتامين يسبب انخفاض نسبة السيستين Cysteine، الذي يساهم في تخليص الجسم من سمية السيانيد، وهذا ما أكدته الدراسات الأقدم من حيث ارتفاع السمية بالسيانيد عند تناول كمية كبيرة من فيتامين C بالتزامن مع العلاج بالأميجدالين ذلك لأن الفيتامين يعطل السيستين.(Basu, 1983, Bromley et al., 2005)

وضع الطبيب Ernest عام 1920 نظريته حول الأميجدالين وقدرته على قتل الخلايا السرطانية. جاء ابنه من بعده ومجموعة من العلماء الذين بحثوا في الأميجدالين وقدرته على قتل الخلايا السرطانية. أظهرت التجارب التي أجريت على الحيوانات عام 1970 قلة السرطانات التي استجابت للعلاج بالأميجدالين. فيما لم ترتبط الدراسات على المرضى الذين من المفترض أنهم تلقوا علاجاً فعالاً وشفافياً بالأميجدالين بالأدلة العلمية الدقيقة. توصلت إحدى الدراسات على مرضى السرطان المعالجين بالأميجدالين عام 1980 عدم فعالية الأخير في إنقاص حجم الورم أو التخفيف من أعراض هذا المرض، أو تحسن الصحة العامة، بل ارتبط ارتفاع نسب التسمم بالسيانيد عند تناول جرعات عالية لذلك خلصت إلى نتيجة مفادها عدم فعالية الأميجدالين في علاج السرطان.(b1991)

وجدت الدراسات لدى المقارنة بين إعطاء الأميجدالين بشكل مفرد أو بالتزامن مع البيتا-غلوكوزيداز أن الأثر السمي للأميجدالين كان أعلى لدى تطبيقه مع الأنزيم منه لو كان مفرداً.(Laster and Schabel, 1975)

يتحرر كميات كبيرة من السيانييد بعد التطبيق الفموي للأميجدالين، ويعود ذلك إلى طبيعة الفلورا المعوية، ومن الممكن أن تتعطل آلية التحلل تلك عندما تعطى الصادات الحيوية لحيوانات التجربة قبل التطبيق الفموي للعقار. كما لوحظ أعراض من اختلال التوازن عندما كان المرضى ممن كان غذائهم يشتمل على مركبات السيانييد (Newton et al., 1981)

هناك الكثير من الدراسات التي بحثت في هذه المادة وتركيبها وأثرها على الحيوانات والإنسان. حيث بات من المعلوم تركيبها الكيميائي وتفككها إلى المركبات الأساسية من غلوكوز وسيانييد الهيدروجين (HCN) والبنزالدهيد ويكون هذا التفكك عند الإنسان بوساطة الفلورا الطبيعية في الأمعاء، ومن هنا يشار إلى السمية المرتبطة مع التناول الفموي لهذا العقار. أما عند الحيوانات لم تُظهر الدراسات أي تحسن ملحوظ من حيث ارتفاع نسبة البقيا مقارنةً مع المجموعات الشاهدة التي لم تتلقَ أي شكل من أشكال هذه المادة. (Dorr and Paxinos, 1978)

استخدامه كعلاج للسرطان:

عاد الأميجدالين كعلاج مضاد للسرطان للاستخدام بشكل مذهل وذلك بعد عقود من تحريمه من قبل منظمة الغذاء والدواء الأمريكية FDA. لاقت الأنظمة الإستقلابية (metabolic) في علاج السرطان رواجاً كبيراً، وذلك في الثمانينيات من القرن الماضي. كمثال على هذه الأنظمة إتباع حميات غذائية معينة أو تناول جرعات عالية من المكملات الغذائية المعدنية والفيتامينات. أُطلق قديماً على هذه العلاجات مصطلح العلاج غير التقليدي (الطب البديل، و المصطلح النهائي هو الطب المكمل والبديل (CAM) (Complementary and Alternative Medecine))

ويُعدّ العلاج بالأميجدالين واحداً من هذه العلاجات وقد يرجع الاستخدام الشائع له إلى انتشار الانترنت والتسوق عبره في الآونة الأخيرة، لكنه مازال يفتقر إلى مزيد من الدراسات (Cassileth and Yarett, 2012).

بينت دراسة تمت لتقييم انتشار الأميجدالين لدى الفئران الخالية من الجراثيم (free germ- rats) أن الأنزيم المسؤول عن شطر الأميجدالين يُفرز في المعى الدقيق، ويغيب في الكولون والمعدة (β -glucosidase) واستبعدت الدراسة أن يكون هذا الأنزيم من مفرزات الفلورا، كون الفئران خالية من الجراثيم، وأكدت التجارب لدى الإنسان وجود هذا الأنزيم كذلك في المعى الدقيق. يوجد هذا الأنزيم في النسيج السرطاني بكثرة ويكون أكثر فعالية في الوسط الذي يكون فيه الباهاء 4,5 أكثر من الوسط ذي الباهاء 7,5 (الباهاء الطبيعي لسوائل الجسم) وذلك في جميع النسيج عدا الكلية والمعى الدقيق. بالتالي أكدت الدراسة أن هذا الأنزيم يُفرز في الخلايا السرطانية ويشطر الأميجدالين إلى مركباته الأساسية ومنها السيانييد الذي يقتل بدوره الخلايا السرطانية. كما لا يسبب الأميجدالين بالتطبيق الوريدي أي مشاكل تسمم للإنسان خلافاً للتطبيق الفموي، ومن هنا استنتجت الدراسة أن الأميجدالين بالطريق الفموي هدفاً لعلاج سرطانات المعى الدقيق والكلية (Newmark et al., 1981) وأكد Flora في دراسته على أن التطبيق غير الفموي للأميجدالين هو الأسلم إذ يؤدي إلى طرح المركب في البول. (Flora et al., 1978).

أكد Moertel النتيجة ذاتها كذلك وأن التطبيق الفموي يترافق مع ارتفاع نسبة السيانييد في الدم (Moertel et al., 1981).

يُعدّ إحداث الموت الخلوي المبرمج من السبل التي تسعى إليها العلاجات للتخلص من الخلايا السرطانية، وذلك من خلال التركيز على المورثات التي تتحكم في هذه السبل، وأهمها كما أشرنا سابقاً هي مورثة BAX التي تحفز الموت الخلوي المبرمج ويقابلها تثبيط مورثة BCL-2 المضادة للموت الخلوي المبرمج والمفعلة في الخلايا السرطانية (Lowe and Lin, 2000). قامت إحدى الدراسات بتقييم فعالية الأميجدالين بالقضاء النوعي على الخلايا السرطانية، وذلك على نسائل خلايا بشرية لسرطان الموثة (DU145 – LNCAP) من خلال تحري أثر هذا العقار على الموت الخلوي المبرمج في تلك الخلايا. كانت النتائج ارتفاع معدل الـ BAX (مورثة محفزة للموت الخلوي المبرمج) وانخفاض تعبيرية الـ Bcl-2 (مورثة مضادة للموت الخلوي المبرمج). إذن يفعل الأميجدالين الموت الخلوي المبرمج في الخلايا السرطانية من خلال تفعيل شلال caspase 3 وتنظيمه لتعبيرية كل من الـ BAX و الـ bcl-2، وبالتالي من الممكن أن يكون هذا المركب من الخيارات النوعية في العلاج. (Chang et al., 2006)

كبح الأميجدالين السرطان تماماً وذلك في نسائل الخلايا السرطانية لسرطان عنق الرحم (HeLa) عند الإنسان وذلك بتحريضه عملية الموت الخلوي المبرمج في تلك الخلايا. تم إجراء تلوين مضاعف بالـ PI (Propidium Iodide) والـ annexin V-FITC إضافة للـ BAX والـ bcl-2. حيث وُجد أنه ينظم عملية الموت الخلوي المبرمج من خلال شلال الـ caspase 3. حيث يسبب كما ذُكر سابقاً انخفاض تعبيرية الـ bcl-2 وارتفاع تعبيرية BAX. (Chen et al., 2013)

في المقابل لم تجد الدراسات على الفئران المحدث لديهم ابيضاض الدم باللمفاويات P388 و ابيضاض الدم ذو الخلايا الأسنة الناسجة P815 أي تأثير للأميجدالين في القضاء على تلك الخلايا السرطانية وذلك بعد إعطاء الجرعات الدوائية التالية 200 مغ/كغ و 2000 مغ/كغ والمراقبة بعد يوم وبعد 5 أيام. حيث لم يظهر استخدام الجرعات العالية من الأميجدالين أي إطالة في عمر الخلايا (Chitnis et al., 1985)

أجرى المعهد الوطني للسرطان في أمريكا عام 1978 (NCI) دراسة استطلاعية حول الأميجدالين وفعاليتته في علاج السرطان من خلال إرسال دعوات بالبريد الالكتروني للأطباء المعالجين بهذا العقار (385 معالج) ومجموعة من المرضى الذين استخدموا هذا العقار (70 مريض). قيم طاقم من أطباء الأورام 120 حالة فقط من مجموع المشاركين وحذفت بقية الحالات لعدم اكتمال البيانات المتعلقة بالدراسة. وزعت الحالات على النحو التالي: 68 حالة معالجة بالأميجدالين و 68 حالة معالجة بالعلاج الكيماوي و 24 لم يخضعوا لأي طريقة علاجية. تبين بالمحصلة حدوث شفاء في 6 حالات فقط من مجموعة الحالات الخاضعة للعلاج بالأميجدالين (حققت اثنتان منهما حالة شفاء تام) . لكن لا تعد النسبة السابقة كافية للجزم بالفعالية العلاجية للعقار. ومن هنا لم ينصح المعهد باستخدامه كعلاج في حالات السرطان. (Ellison et al., 1978)

في دراسة على 178 مريض سرطان لدراسة أثر الأميجدالين، وُصف للمرضى إضافة إليه مجموعة من الفيتامينات والأنزيمات وكانوا بصحة جيدة عند بدء التجربة ولم يتلق تلتهم أية معالجة كيميائية قبل الاشتراك بالدراسة. تبين لاحقاً عدم تحسن حالة المرضى أو حدوث حالات

شفاء بل على العكس ظهر أعراض تسمم بالسيانيد لدى العديد منهم. نصحت الدراسة بضرورة تنبيه المرضى إلى الأعراض المحتملة المرافقة لتناول العقار والسمية التي قد تنتج عن تناول حبوب مرة طازجة إضافة للعلاج أو تناول فيتامينات بالتزامن معه. كما خلصت إلى عدم اعتبار هذا العقار علاجاً مكماً للسرطان. (Moertel et al., 1982)

بينت دراسة أخرى فعالية الأميجدالين في علاج سرطان الكولون من خلال تنظيم تعبيرية المورثات المسؤولة عن دورة حياة الخلية. تمت الدراسة على سرطان الكولون في نساءل خلوية (SNU-C4) التي صنفت في مجموعتين: الأولى وهي المجموعة الشاهدة (لم تخضع لأي تغيير)، وتمت معاملة الثانية بالأميجدالين بنسبة 5mg/ml خلال 24 ساعة. (Park et al., 2005)

أوضحت إحدى الدراسات أن فعالية الأميجدالين في علاج السرطانات ترتفع 36 ضعفاً عندما يكون العلاج موجهاً بالأنزيمات، بمعنى أن استعمال الأنزيمات يدعم فعالية الأميجدالين كونه يعزز عملية تحلله. (Syrigos et al., 1998)

يوجد في المكسيك مركزاً يعالج مرضى السرطان بما يسمى " العلاج الاستقلابي " الذي يقوم على 3 محاور أساسية، وهي تعزيز مناعة الجسم وتنظيفه من السموم والمواد الضارة وقتل الخلايا السرطانية وذلك كله باستخدام ومواد طبيعية. لم ترق هذه الطريقة نسبة لإحدى الدراسات إلى مصاف طرق علاج السرطان من باب أنها طريقة غير مثبتة والمواد المستخدمة لم تخضع لدراسات الحالات المقرونة بالشواهد، وخلصت بالتالي مع دراسات أخرى إلى خطورة استخدام

الأميجدالين كعلاج للسرطان لافتقار الأدب الطبي بالمعلومات المثبتة حول فعاليته والخطورة المرافقة للتناول العشوائي لهذا المركب مع غيره من المكملات الغذائية. (a1991)

دُرس أثر الأميجدالين كذلك في التشكل الوعائي في الخلايا البطانية في داء السكري المحدث لدى فئران التجربة. كان تركيز الأميجدالين 3 ملغ/كغ وكان الحقن ضمن البريتوان بعد 8 أسابيع من إحداث الداء السكري. وتمت التضحية بالفئران في اليوم التالي، وحضن الشريان الأبهر في وسط زرع خلوي ورصد التشكل الوعائي المحدث من خلال عد الأوعية المتشكلة في كل وحدة. وكانت النتيجة كبح التشكل الوعائي في المزارع الخلوية وبالتالي حملت هذه الدراسة وعداً بإمكانية استخدام الأميجدالين لكبح التشكل الوعائي في الأمراض التي لا يستحسن حدوث تشكل وعائي فيها كما في السرطان. (Mirmiranpour et al., 2012)

أُجريت إحدى الدراسات لتقييم التأثير الدوائي والسمية المحتملة للأميجدالين على 6 مرضى سرطان، حيث حقن الأميجدالين وريدياً لديهم حسب الجرعة التالية $4.5\text{mg}/\text{m}^2$ يومياً، ولم تلاحظ أي حالة سمية أو أي تغير في البول، لكن زادت كمية الغائط. وعندما أعطيت الجرعات الفموية 0.5 g يومياً ارتفع تركيز السيانييد في الدم إلى $2.1\text{ microgram}/\text{ml}$ لكن لم تسجل سوى حالة تسمم عابرة لدى واحد فقط من المرضى. أشارت الدراسة بالنتيجة إلى أن الجرعات السابقة لم تحدث تأثيرات سمية، لكن الأمر يحتاج مزيداً من الدراسة على المدى البعيد. (Moertel et al., 1981)

أكدت إحدى الدراسات على سيدة مصابة بسرطان في المثانة سمية الأميجدالين، إذ كانت تتناوله المريضة بشكل حبوب 500 مغ وتقول الدراسة أن سمية الأميجدالين تعود إلى تحريره السيانييد

الذي يثبط عملية الفسفرة التأكسدية في المتقدرات. يزداد بالتالي الاستقلاب اللاهوائي وإنتاج حمض اللبن. كانت المريضة تعاني من حمض لبنى عندما أُسُغت للمشفى وما من مبرر آخر لهذه الأعراض التي تراجعت فوراً لدى إعطاء المريضة الهيدروكسوكوبالامين Hydroxocobalamin الذي يعتبر ترياقاً للسيانيد. ينتج نظرياً عن جرعة سيانيد 3000 مغ حوالي 180 مغ من السيانيد علماً أن الجرعة القاتلة من السيانيد 50-100مغ. إن عملية تحلل الأميجدالين بعد امتصاصه متخفضة جداً لذلك لا تُشاهد أعراض سمية بعد التطبيق غير المعوي (Parenteral admistration). حيث تتم عملية التحلل في الأمعاء بوجود أنزيم البيتا - غلوكوزيداز الذي تفرزه بعض الجراثيم في الفلورا المعوية والحرارة والأحماض المعدنية والنسب المرتفعة من حمض الاسكوربيك. علماً أن المريضة في هذه الحالة لم تلتزم بالجرعة التي توصي بها الدراسات، التي عادةً تكون 1,5 - 2 غ في اليوم (Moertel et al., 1982)(Bromley et al., 2005) حيث أن الالتزام بهذه الجرعة لم يسبب ظهور أي سمية بالسيانيد. وحسب الدراسات لا سمية بالتطبيق الفموي للسيانيد عندما لا تتجاوز الجرعات 6 غ في اليوم. رجحت هذه الدراسة أن السمية التي أُصيب بها هذه السيدة تعود لتناولها جرعات عالية من فيتامين ث C ، الذي لا يعمل على زيادة تحلل الأميجدالين وحسب وإنما يؤدي إلى انخفاض محتوى الجسم من السيستين (Cysteine) الذي يسهل عملية إزالة سمية السيانيد (Bromley et al., 2005).

جاء في دراسة لأثر الأميجدالين على مرضى السرطان وتركيز الأميجدالين في المصل والبول والتركيز الكلي للسيانيد في الدم وتركيز الثيوسيانات في المصل والبول، وذلك بعد التطبيق الوريدي للأميجدالين لدى مرضى السرطان وجرعة 4,5 غ/م² والتطبيق الفموي بشكل حبوب

500مغ، كانت النتيجة أنه وبعد التطبيق الوريدي لم يُلاحظ أي ارتفاع لنسبة السيانييد في المصل، ولوحظ ارتفاع الأميجدالين في المصل لدى عينتتين بنصف عمر حيوي 6.2 دقيقة. أما بعد التطبيق الفموي لم ترتفع نسبة الأميجدالين لأكثر من 525 نانوغرام/مل في المصل فيما ارتفع السيانييد في الدم إلى 2.1 ميكروغرام/مل. فيما لم ترتفع نسبة الثيوسيانات على مدى عدة أيام وارتفع تركيز السيانييد في الدم لدى اثنان من المرضى الذين تناولوا حبوب اللوز أثناء تناول الفموي للعقار (Ames et al., 1981)

درس Chang تأثير الأميجدالين على الخلايا السرطانية في سرطان الموثة من خلال دراسة تأثير العقار على بروتينات سبيل الموت الخلوي المبرمج من خلال أهميته في إيقاف نمو الأورام وباعتباره آلية أساسية في العديد من الحالات المرضية، ويعتبر من أساسيات عملية إعادة بناء النسيج remodeling وأهم البروتينات في هذا السبيل BCL-2 و BAX حيث نصل من خلال تفعيل الشلال Caspase 3 إلى أحداث الموت الخلوي المبرمج للخلية عبر تحرير السيتوكروم C من الميتوكوندريا. تفترض الدراسات أن هذا العقار يسبب الموت الخلوي المبرمج في الخلايا السرطانية من خلال تدمير الدنا في هذه الخلايا وكبح تركيبه ونضوب النكليوتيدات داخل الخلية. تناولت هذه الدراسة سلاسل سرطان البروستات LNCAP / DU145 لدراسة سمية العقار على الخلايا البشرية واستخدمت التراكيز التالية:

0,001 - 0,01 - 1 - 10 مغ/مل خلال 24 ساعة، ولوحظ انخفاض حيوية الخلايا عند التراكيز السابقة. واستخدمت الدراسة تقنية PCR لدراسة تأثير الأميجدالين على كل من ال-BCL

2 وBax، وكانت النتيجة انخفاض تركيز الأول (البروتين المضاد للموت الخلوي المبرمج) وارتفاع تركيز الأخير (المحفز للموت الخلوي المبرمج) (Chang et al., 2006).

قامت دراسة حديثة بالتركيز على فعالية الأميجدالين في كبح سرطان الموثة من خلال تحري أثره على واسمات الموت الخلوي المبرمج. وجدت هذه الدراسة ارتفاعاً ملحوظاً في تعبيرية كل من الـ P53 والـ BAX وانخفاضاً في تعبيرية الـ BCL2. اقترحت الدراسة بالتالي أن تغيير نسبة الـ P53 إلى الـ BCL2 هي السبب في تحريض الموت الخلوي المبرمج في الخلايا السرطانية (Ha et al., 2015).

أثبتت دراسة أخرى حديثة أهمية الأميجدالين ودوره في منع حدوث النقائل السرطانية والاستعمار. ركزت هذه الدراسة على علاقة الأميجدالين مع الوصلات بين الخلية من عائلة الانتغرين (α و β) التي تتدخل في الارتباط الخلوي-الخلوي وتؤثر بالتالي على عملية الغزو والاستعمار الورمي. وجدت الدراسة أن الأميجدالين يكبح الغزو من خلال إغلاق أو زيادة تعبيرية الانتغرينات وخاصة الانتغرين $\beta 1$ والانتغرين $\beta 2$. كان الأميجدالين المستخدم بتركيز 10 مغ/مل يومياً لمدة أسبوعين وذلك على نساءل خلوية من سرطان المثانة (Makarevic et al., 2014b).

كذلك سجلت دراسة أخرى فعالية الأميجدالين في منع الغزو السرطاني في سرطان المثانة. كانت التجربة في الزجاج (in vivo) وكانت الجرعة الكافية لمنع الغزو 2,5 مغ/كغ، ولمنع الاستعمار 5 مغ/كغ. انخفضت قدرة الخلايا السرطانية على الغزو والاستعمار بعد 48 ساعة من تطبيق الأميجدالين في مستعمرات الخلايا السرطانية. كان تأثيره من خلال down regulating

تعبيرية الانتغرين $\beta 1$ و $\beta 2$ و الـ β -catenin و up regulating الـ E-cadherin.

(Qian et al., 2015).

الباب الثالث المواد والطرائق

Materials and Methods

تصميم الدراسة: Study Design

اعتمدنا في هذا البحث إجراء مقارنة بين مادة الأميجدالين التي استخلصناها في مخابر التشريح المرضي الفموي وكلية العلوم، وبين مادة الأميجدالين المستوردة من أوروبا وذلك من حيث الفعالية في الوقاية والعلاج من السرطان شائك الخلايا الفموي المحدث في الجيب الخدي للهامستر. تمت الدراسة على أربع مجموعات تجربة. تألفت العينة الدراسية من مجموعة من الهامسترات بلغ عددهم ستين هامسترًا، حيث حُضِنُوا في حواضن كلية الصيدلة- جامعة دمشق وخضعوا للظروف ذاتها من حيث دورة الإنارة والتغذية، وتم عزل الذكور عن الإناث وجرت التجربة على الذكور من الهامستر وذلك لتجنب التداخل الدوائي مع الفعل الهرموني لدى الإناث. كانت التجربة الأولى لتحري أثر الأميجدالين المستورد على أهم الأعضاء الطبيعية الحيوية وهي القلب والرئة. كان العدد الكلي 15 هامسترًا. قمنا في التجربة الثانية بدراسة أثر الأميجدالين المستورد في الوقاية من الإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي وذلك من خلال التطبيق فمويًا عبر السبيل الهضمي. بلغ عدد الهامستر في التجربة الثانية 15 هامسترًا. تألفت التجربة الثالثة من 15 هامستر. اختبرنا فيها فعالية الأميجدالين المستورد في علاج السرطان شائك الخلايا الفموي وذلك حقنًا بالبريتوان، بعد إحداث السرطان. أما المجموعة الرابعة والأخيرة درسنا فيها أثر الأميجدالين المستخلص في علاج السرطان شائك الخلايا الفموي وذلك من خلال الحقن بالبريتوان. جرت التجربة الأخيرة على 15 هامسترًا أيضًا.

تم تطبيق العمل خلال أربعة أشهر لكل مجموعة تجربة خلال سنتين تقريباً، منذ شهر شباط 2014 حتى شهر أيلول 2015.

كانت فترة ثلاثة أشهر ونصف في التجارب السابقة، هي الفترة الزمنية اللازمة لإحداث السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي للهامستر (Chen and Lin, 2010)(Wani et al., 2001). وفترة عشرون يوماً لتطبيق الأميجدالين العلاجي حقناً في البريتوان كما في التجربة الأولى والثالثة والرابعة، أو طوال الفترة اللازمة لإحداث السرطان أي ثلاثة أشهر ونصف عبر السبيل الهضمي فموياً كما في التجربة الثانية (Stock et al., 1978).

بعد انتهاء فترة العمل تمت التضحية بالهامستر تباعاً خلال مرحلة تطبيق العلاج (بعد 10 أيام و15 يوماً وعشرين يوماً) كما في التجربة الثالثة والرابعة. جرت التضحية بالنسبة للتجربة الأولى بعد عشر أيام وبعد خمسة عشر يوماً . ضحينا بالهامستر في التجربة الثانية، بعد انقضاء الأشهر الثلاثة والنصف.

بعد التضحية بالهامستر، تم أخذ الجيب الخدي لدراسة تراجع السرطان التالي للعلاج كما في التجربة الثالثة والرابعة أو تأخر حدوثه كما في التجربة الثانية. وكذلك تم استئصال كل من القلب والرئة لدراسة تأثير المادة الدوائية على هذين النسيجين وذلك في التجربة الأولى (Park et al., 2013).

دُرست المقاطع بالتلوين التقليديين (هيماتوكسلين-ايوزين) وأجرينا مجموعة من الملونات المناعية لتحري السبيل المفترض الذي يؤثر فيه العلاج داخل الخلايا. استخدمنا الملونات المناعية التالية β -catenin و p53 والـ BCL2.

الفترة الزمنية للدراسة:

بعد الحصول على الموافقة على إجراء البحث تم إجراء دراسة استطلاعية على عشرة حيوانات من الهامستر لاختبار تصميم الدراسة والطرق، امتدت من شباط 2014 إلى أيار 2014 جرى اختبار تطبيق المادة المسرطنة في الجيب الخدي واستخدام المادة العلاجية (المستوردة خمسة من الهامستر والمستخلصة خمسة من الهامستر) بالحقن البريتواني. لم نواجه أي مشاكل خلال مراحل العمل، ولم نلاحظ أية تبدلات في سلوك أو نشاط الهامستر نتيجة تطبيق العلاج. ضُمنت نتائج الدراسة الاستطلاعية إلى الدراسة الأساسية.

بعدها تم إجراء التجارب الأربع بشكل منفصل. امتدت الأولى من حزيران 2015 إلى أيلول 2015، جرى بعدها تحضير المقاطع النسيجية ودراستها. امتدت التجربة الثانية من شباط 2015 إلى أيار 2015. امتدت التجربة الثالثة والرابعة من حزيران 2014 حتى أيلول 2014. حصلنا بعدها على المقاطع النسيجية وتمت دراستها مجهرياً بالملونات التقليدية، تلاها التلوين الخاص بالملونات المناعية ودراسات المقاطع وإجراء الدراسة الإحصائية.

حساب حجم العينة:

تم رصد عدد الهامستر في عينة البحث باستخدام البرنامج الإحصائي G-Power، تألفت من 60 هامستر، وزعت إلى خمسة عشر هامستر في كل تجربة من التجارب الأربعة.

مرافق الدراسة:

جرت الدراسة المخبرية التطبيقية على الهامستر في حواضن كلية الصيدلة- جامعة دمشق. فيما تمت التضحية بالهامستر وأخذ النسيج للدراسة النسيجية في قسم النسيج والتشريح المرضي-كلية طب الأسنان-جامعة دمشق، وتحضير الأميجدالين المستخلص في كلية العلوم-قسم الكيمياء.

اختيار العينة:

تم اختيار مجموعة من الهامستر الذكور وذلك لتجنب التأثيرات الهرمونية وتداخلها مع العقار فيما لو تم اختيار العينة من الإناث كان وزن 15 واحداً منهم 50 غ، وبلغ وزن باقي العينة حوالي 100 غ.

المادة المسرطنة:

اخترنا مادة DMBA لإحداث السرطان في الجيب الخدي للهامستر. تتمتع هذه المادة بمجموعة من المزايا تدفع إلى استخدامها في الأبحاث، منها أنه بالإمكان مراقبة سير عملية تشكل الورم عياناً ونقوم بإجراء التحاليل النسيجية المرضية في نهاية الدراسة فقط عند التضحية بحيوانات التجربة. بما أن عملية تشكيل الورم بهذه الطريقة ممكنة، باستطاعتنا بالتالي اختبار المواد

المستخدمة بالعلاج الكيميائي أو تأثير العوامل الغذائية على الورم (Abel et al., 2009)(Chen and Lin, 2010).



الشكل 10-2 الشكل التجاري لمادة الـ DMBA المسرطنة

تعد مادة الـ DMBA من الفحوم الهيدروجينية العطرية عديدة الحلقة Polycyclic aromatic hydrocarbon carcinogen وقد درست هذه المادة وأثرها في إحداث السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي للهامستر وذلك مفردة أو بالتزامن مع عوامل أخرى مثل فيروس الحلاّ البسيط النمط الأول (Cornella et al., 1989).

حيث تستخدم الدراسات هذه المادة لإحداث السرطان وخاصة السرطان شائك الخلايا ودراسة أو اختبار فعالية عقاقير وأدوية معينة في علاج ذلك السرطان، ومنها دراسة قامت لتقييم دور الـ Boron neutron capture therapy (BNCT) وذلك في علاج السرطان شائك الخلايا المحدث في الجيب الخدي للهامستر بواسطة هذه المادة (Heber et al., 2007)، وأخرى

درست فعالية عقار كيماوي وهو N(4-Hydroxyphenyl retremid) وذلك باستخدام DMBA ودهنه في الجيب الخدي للهامستر ثلاث مرات في الأسبوع (Lajolo et al., 2008).

وأكدت دراسة Hsue أن السرطان شائع الخلايا المحدث في الجيب الخدي للهامستر بهذه الطريقة يشكل نموذجاً تجريبياً مناسباً لاختبار الوسائل العلاجية (Hsue et al., 2008).

المادة العلاجية (الأميجدالين):

تم استخلاص مادة الأميجدالين من بذور المشمش المر، وذلك بالاستعانة بمخبر قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان، حيث تم طحن حبوب المشمش المر منزلياً، فيما تمت عملية وزنها وحلها في مادة ايزوبروبيل الكحول ISOPROPLE ALCHOHOLE مدة ساعتين ونصف بدرجة حرارة ثابتة (37)، ثم تجفيفها على قطعة من الكتان مدة 72 ساعة. غُسل بعدها المسحوق الجاف بالايثر ETHER ثم التجفيف على طبق ستانلس بحرارة 50-60 درجة مئوية.

تم اختبار نقاء المسحوق التي حصلنا باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer في كلية العلوم - قسم الكيمياء. تم حل 100 ملغ من البودرة في 100 مل من الماء المقطر وعائرنها في الجهاز بتحديد درجة الامتصاص عند الأطوال الموجية 230 و280 نانومتر. كانت النسبة المئوية للأميجدالين النقي في البودرة وفق المعادلة التالية:

$$\text{(درجة الامتصاص العظمى - درجة الامتصاص الصغرى)} \div 595 \times 100$$

$$(110 - 690) \div 595 \times 100 = 97,4 \% \text{ (الملحق 1)}$$

حصلنا بالتالي على مسحوق الأميجدالين الذي تم حله في الماء المقطر وأعد للحقن البريتواني وذلك بتركيز 5 ملغ/مل (Park et al., 2005)(Lv et al., 2005).



الشكل 11-2 من مراحل تحضير الأميجدالين مخبرياً

استطعنا لاحقاً الحصول على مادة الأميجدالين من أوروبا، حيث تُباع كمادة وقائية من حدوث السرطانات والأمراض وكذلك كمادة معززة للمناعة. من شركة (Terezia company) تحت اسم (B17 APRICARC) على شكل كبسولات جيلاتينية تحوي داخلها 160 مغ من المادة الفعالة الصافية. قمنا بتحضير وإعداد البودرة لإعطائها بالطريق الفموية للهامستر وفق الطريقة التالية وذلك باعتماد الجرعة العلاجية الفعالة 200 ملغ لكل كغ وزن:

1. حضرنا ليتر من الماء المقطرة.
 2. التركيز العلاجي 200 ملغ لكل كغ. وكان وزن الهامستر في التجربة 50 غ، إذن علينا أن نحصل على تركيز مادة فعالة 10 ملغ من الـB17.
 3. هذه الـ 10 ملغ ستحل في سiring انسولين 5 مل ويتم نزع رأس السiring ودفع المحتوى في المري.
 4. بما أن محتوى كل كبسولة 160 ملغ من المادة الدوائية إذن علينا ان نحل محتوى الكبسولة الواحدة في 80 مل من الماء المقطر
 5. يلزم بالتالي لتحضير محلول 100 مل تفريغ محتوى 12,5 كبسولة. نكون هكذا قد حصلنا على محلول للمادة الدوائية الفعالة بجرعة العلاج المختارة 200 ملغ لكل كغ.
- تم تطبيق هذا التركيز بالطريق الفموي لدى مجموعة من الهامستر للمقارنة مع المادة المستخلصة وكانت النتائج مطابقة، وذلك في التجربة الثانية التي تمت لاختبار التأثير الوقائي لمادة الأميجدالين.
- استخدمنا لاحقاً هذه المادة في اختبار آخر على مجموعة جديدة من الهامستر لدراسة التأثير العلاجي لهذه المادة. اختير لهذه التجربة 15 هامستراً، أحدث لديها السرطان بتطبيق الـ DMBA مدة ثلاثة أشهر ونصف. بعد التأكد من ظهور الكتل السرطانية طبقت مادة الأميجدالين المستوردة بعد حلها في المادة وإعدادها للحقن البريتواني بتركيز 5 ملغ/ مل. أرفقت هذه التجربة بدراسة تأثير مادة الأميجدالين على مجموعة سليمة من الهامسترات (عددها ستة هامسترات) ، لدراسة التأثيرات الممكنة للعقار على النسيج الطبيعية (القلب والرئتين).

الملونات المناعية المستخدمة:

استخدمنا في هذه الدراسة مجموعة الملونات المناعية التالية:

1. الملون P53:

حيث يعطي ايجابية نووية في الخلايا القاعدية في المخاطية الفموية السليمة ويعود السبب إلى أن الأذية الكيميائية والعوامل البيولوجية الدقيقة Microbiology تتراكم في الخلايا القاعدية، والسبب الآخر خلل سبيل تخرب degradation أو ارتباط بروتين P53 ببروتينات أخرى مثل البروتينات المرمزة من فيروسات صيغتها المورثية DNA (DNA- virus encoded proteins) وتعطي جميع طبقات البشرة ايجابية نووية في السرطان شائك الخلايا الفموي (الشاهد الايجابي أورام وسرطانات الجلد).

2. الـ β -catenin: من عائلة الكادهيرينات (Cadherin)، يوجد في الهيولى الخلوية في

المنطقة تحت الغشاء الخلوي مباشرة. تؤدي الطفرة في مورثة الـ β -catenin إلى

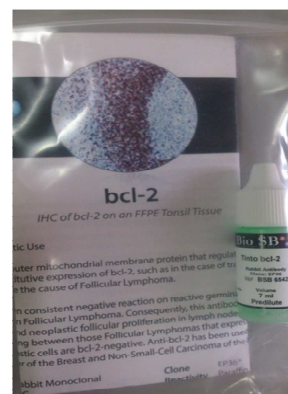
تراكم هذا البروتين في النوى.

3. الـ BCL2:

هو بروتين هيولي. يتوضع على الغشاء الخارجي للمتقدرات الحيوية ويقوم بإغلاق سبيل الموت

الخلوي المبرمج لبعض الخلايا مثل اللمفاويات ولذلك يعد شاهداً إيجابياً في اللوزات. أما تعطل

سبيل هذا البروتين في خلايا أخرى يرتبط بحدوث السرطان مثل اللمفوما الجرابية.



الشكل (2-12) الملون المناعي BCL-2 و beta-catanin من شركة Bio-SB الأمريكية

والملون المناعي P53 من شركة Dako

المواد والأجهزة المستخدمة:

استخدمت المواد التالية:

1. الفورمالين بتركيز 10%: لتثبيت النسيج المستأصلة من الهامسترات إثر التضحية بها.
2. الكحول والكزيلول.
3. شمع البارافين.
4. اللامات الزجاجية التقليدية (للتلوين التقليدي الهيماتكسيلين والايوزين) واللامات الخاصة بالتلوينات المناعية.
5. السواتر الزجاجية لحفظ العينة على اللامات.
6. بلسم كندا.
7. الملونات التقليدية: الهيماتكسيلين والايوزين.
8. الملونات المناعية التالية: P53 و β -catenin و BCL2.

9. محلول استرجاع المستضد Anti-gene retrieval.
10. المحلول الدارئ Wash buffer.
11. مجموعة التلوين المناعي المفرد الخاصة بالملونات المناعية ويشمل:
 - أ. الضد الأولي Primary antibody: وهو ضد وحيد النسيلة مستخلص من الفئران، من شركة Bio-SB الأمريكية للملونات الثلاثة سابقة الذكر.
 - ب. حاصر البيروكسيداز Peroxidase blocker
 - ج. Poly Detector HRP Label
 - د. الـ DAB مولد اللون.
12. المبشرة النسيجية من شركة Lecia – ألمانيا.
13. سخان مائي من شركة Lecia.
14. مايكرويف (فرن الأمواج القصار) من شركة وتار واستطاعته 1350 واط.
15. قلم التحديد من Dako.
16. الممص Pipette.
17. المجهر الضوئي من نوع Nikon OLYMPUS – اليابان.

طريقة العمل:

قُسمت الدراسة إلى أربع مجموعات تجربة:

التجربة الأولى:

ضمت هذه المجموعة الأولى 15 هامسترًا سليمين، طُبقت المادة العلاجية حقناً بالبريتوان لديهم لدراسة أثر هذه المادة على النسيج الحيوية الهامة، خاصة القلب والرئتين. كان تركيز المادة العلاجية 5 ملغ/مل.

تم تحضير مادة الأميجدالين التجارية من شركة Terezia وحلّها بالماء المقطر وإعدادها للحقن البريتواني بتركيز 5 ملغ/مل (Park et al., 2005).

ضحينا بسبع من الهامستر السليمة بعد خمسة أيام من بدء حقن الأميجدالين فيها واستأصلنا القلب والرئة. ضحينا بعد مرور عشر أيام على بدء تطبيق الأميجدالين بالهامستر الثمانية المتبقية، واستأصلنا القلب والرئة وحصلنا على المقاطع النسيجية وحضرناها للتلوين التقليدي والمناعي.

التجربة الثانية:

ضمت 15 هامسترًا. جرت عليها دراسة أثر تطبيق الأميجدالين المستورد في الوقاية من الإصابة بالسرطان شائك الخلايا الفموي، وذلك عبر السبيل الهضمي فمويًا. أحدث السرطان في الجيب الخدي بتطبيق المادة المسرطنة DMBA مدة ثلاثة أشهر ونصف دهناً في الجيب الخدي ثلاث مرات في الأسبوع، تناوباً مع إعطاء جرعة الأميجدالين فمويًا. استمرت التجربة ثلاثة أشهر ونصف تم بعدها التضحية بالهامستر. كانت مادة الأميجدالين المستخدمة في هذه التجربة مستوردة من التشيك – أوربا من شركة Terezia. كانت جرعة العلاج المعتمدة للتطبيق الفموي 200 مغ/كغ.

بما أن تركيز المادة الفعالة الدوائية (الأميجدالين) في كل كبسولة كان 160 ملغ. اعتمدنا التالي للوصول إلى الجرعة العلاجية المستخدمة:

200 ملغ (أميجدالين) لكل 1000 مغ من وزن الهامستر

إذن لو كان وزن الهامستر 50 ملغ (وهو وزن الهامستر في هذه التجربة) 10 ملغ من الأميجدالين للهامستر الواحد بالوزن المذكور.

كانت طريقة التطبيق في السبيل الهضمي حل الأميجدالين في الماء المقطر واستخدام سيرنج أنسولين لنقلها إلى الهامستر (تشريب) كان بالإمكان تشريب الهامستر في كل جرعة علاجية 5 مل، لذلك وجب أن يكون تركيز الأميجدالين 10 ملغ /مل.

بما أن تركيز المادة الفعالة في الكبسولة الواحدة 160 ملغ، كان لابد للوصول للتركيز المطلوب من حلها في 80 مل ماء مقطر.

إذن لتحضير 80 مل بالتركيز العلاجي 200 ملغ /مل، احتجنا كبسولة واحدة، ولتحضير لتر كامل استخدمنا 12,5 كبسولة. قمنا بنهاية الفترة التجريبية (ثلاثة أشهر ونصف) بالتضحية بالهامستر. أخذ الجيب الخدي من الهامستر في كلا المجموعتين وأُجريت المقاطع النسيجية والتلوينات التقليدية بالملونين التقليديين (الهيماتوكسيلين والإيوزين)، إضافة إلى الملونات المناعية التالية: الـ P53 والـ β -catenin والـ Bcl2، وذلك وفق طريقة التلوين التي سترد لاحقاً.

التجربة الثالثة:

تألفت من 15 هامسترًا. اختُبر فيها فعالية الأميجدالين المستورد في علاج السرطان شائك الخلايا. حيث أحدثنا السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي للهامستر بدهن المادة المسرطنة DMBA، مدة ثلاث أشهر ونصف. بعد انتهاء فترة تطبيق الـ DMBA تابعنا بتطبيق المادة العلاجية، الأميجدالين حقناً في البريتوان، والتي كنا قد استخلصناها في مخابر قسم النسيج والتشريح المرضي الفموي في كلية طب الأسنان-جامعة دمشق، وفق ما ذكرناه سابقاً. استمر الحقن مدة عشرين يوماً، كان تركيز المادة العلاجية 5 ملغ/مل باستخدام سرنغ أنسولين (Park et al., 2005).

جرى بعدها التضحية بالهامستر. أخذ الجيب الخدي من الهامستر في كلا المجموعتين وأُجريت المقاطع النسيجية والتلوينات التقليدية بالملونين التقليديين (الهيماتوكسيلين والإيوزين)، إضافة إلى الملونين المناعيين، الـ P53 ومشعر الانقسام الخلوي، وذلك وفق طريقة التلوين التي سترد لاحقاً.

التجربة الرابعة:

تألفت هذه التجربة من 15 هامسترًا. جرى في دراسة فعالية الأميجدالين المستورد في علاج السرطان شائك الخلايا الفموي وذلك عن طريق الحقن البريتواني.

تم تحضير مادة الأميجدالين التجارية من شركة Terezia وحلّها بالماء المقطر وإعدادها للحقن البريتواني بتركيز 5 ملغ/مل (Park et al., 2005). تمت التضحية على النحو التالي:

1. استغرق إحداث السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي للهامسترات الخمسة عشر مدة ثلاثة أشهر ونصف.
2. بدأنا بعدها تطبيق الأميجدالين حقناً بالبريتوان، على الهامسترات الخمسة عشر. كان تركيز المادة العلاجية 5 ملغ/مل.
3. ضحينا بخمسة من الهامستر بعد 10 أيام من بدء تطبيق العلاج، واستأصلنا الجيب الخدي الأيسر الذي جرى دهن المادة المسرطنة عليه،
4. ضحينا بعدد آخر من الهامستر (خمسة من الهامستر) بعد مرور خمسة عشر يوماً على بدء العلاج، واستأصلنا الجيب الخدي الأيسر الذي جرى دهن المادة المسرطنة عليه.
5. ضحينا بالمجموعة الأخيرة من الهامستر (خمسة من الهامستر) بعد انقضاء عشرين يوماً على بدء العلاج، واستأصلنا الجيب الخدي الأيسر الذي جرى دهن المادة المسرطنة عليه.

مراحل تحضير الخزعات النسيجية:

تمر الخزعات بعد استئصالها بمجموعة من المراحل لنحصل بالتالي على عينات مدمجة بشمع البارفين جاهزة للنقطيع والتلوين، سواء التلوين الكيميائي المناعي أو التلوين التقليدي. تتبع الخزعات بعد الاستئصال التسلسل التالي:

1. التثبيت: تحفظ الخزعات مباشرة بالفورمول الممدد بتركيز 10% مدة 24 ساعة

2. التجفيف: تهدف هذه الخطوة إلى التخلص من الماء في الخزعة. حيث تُمرر على ثلاثة حمامات من الكحول، الحمام الأول بتركيز 70% مدة ساعة والثاني بتركيز 85% مدة ساعة وأخيراً حمام كحول مطلق مدة ساعة.
3. التشفيف: تتم بوضع الخزعة في الكزيلول بهدف طرد الكحول منها وجعلها شافة. كذلك تمر بثلاث حمامات ولمدة ساعة في كل حمام.
4. الإدماج بشمع البارافين: تُوضع الخزعات في البارافين المنصهر بدرجة 55 مئوية. ثم تُصب ضمن قوالب وتترك لتتصلب وتُحفظ في البرادات. هكذا تصبح القالب جاهزة للتقطيع والتلوين التقليدي والكيميائي النسيجي.

مراحل تلوين الخزعات بالتلوين التقليدي (الهيماتوكسلين-إيوزين):

يمر التلوين التقليدي بالمراحل التالية:

1. يُثبت القالب الشمعي الحامل للعينات النسيجية على المبشرة النسيجية (Microtome) وتُحدد ثخانة القطع بـ 4 ميكرونات.
2. بعد الحصول على المقاطع النسيجية على الشريط الشمعي المجعد، تُفرش في حمام مائي يحتوي الماء المقطر بدرجة حرارة 40-45 درجة مئوية. تُزال التجاعيد ويتم فصل المقاطع المتصلة لتحمل بعدها على اللامات الزجاجية.
3. يتم تجفيف اللامات من الماء، بوضعها فوق سخان حرارته 45 درجة مئوية مدة ربع ساعة.

4. تمرر اللامات على ثلاث حمامات من الكزيلول ولمدة ربع ساعة في كل حمام بغية إزالة شمع البارافين.
5. يتم طرد الكزيلول بتمرير اللامات على أربع حمامات من الكحول المطلق فالكحول بتركيز 95% ثم بتركيز 70% ثم 50% وذلك لمدة ربع ساعة في كل حمام.
6. تُغسل اللامات بالماء وتمرر على الهيماتوكسلين مدة دقيقتين ثم تُغسل بالماء.
7. تُضع بعدها في الإيوزين مدة دقيقة ونصف وتُغسل بعدها بالماء.
8. يتم بعدها طرد الماء من العينات النسيجية بتمريرها على حمامات متتالية من الكحول (70% ثم 95% ثم 100% بالترتيب) مدة دقيقة في كل حمام.
9. تمرر بعدها على حمامين من الكزيلول لطرد الكحول، لمدة خمس دقائق تقريباً.
10. يوضع بلسم كندا فوق العينة النسيجية على اللامة وتُستتر أخيراً بسواتر زجاجية.

دراسة العينات النسيجية المعدة بالتلوين التقليدي:

تمت دراسة كافة المقاطع التي تم تلوينها بالتلوين التقليدي واستخدمنا لذلك المجهر الضوئي من شركة Nikon OLYMPUS اليابانية.

دراسة مقاطع التجربة الأولى الملونة بالتلوين التقليدي:

درسنا مقاطع القلب والرئة في مجموعة الهامستر التي تم فيها حقن الأميغدالين المستورد في البريتوان لدراسة تأثير المادة على النسيج الطبيعي، وسجلنا التغيرات المرضية في بشرة الجيب الخدي للهامستر.

دراسة مقاطع التجربة الثانية الملونة بالتلوين التقليدي:

تمت دراسة المقاطع من العينة التي تلقت الأميجدالين المستورد بالطريق الفموي تناوباً مع المادة السرطانية. فحصنا مقاطع الجيب الخدي وسجلنا وجود تغيرات في بشرة الجيب. تراوح الوصف النسيجي من بشرة طبيعية سليمة إلى تسمك بسيط في البشرة أو جود سوء تصنع بشروي بدرجاته البسيطة والمتوسطة والشديدة.

أما العينة السرطانية النموذجية المفترض ظهورها بعد تطبيق الـ DMBA، تكون الساحات فيها وصفية للسرطان شائك الخلايا.

دراسة مقاطع التجربة الثالثة الملونة بالتلوين التقليدي:

تمت دراسة المقاطع من العينة الثالثة التي تلقت الأميجدالين المستخلص كعلاج حقناً بالبريتوان. فحصنا مقاطع الجيب الخدي وسجلنا وجود تغيرات في بشرة الجيب. تراوح الوصف النسيجي من بشرة طبيعية سليمة إلى فرط تصنع بسيط في البشرة أو وجود علائم سوء تصنع أو سرطان شائك الخلايا. انحصر الوصف النسيجي في المجموعات الثلاث الأولى حيث لم يلاحظ بالفحص النسيجي لجميع العينات أي ساحات لسرطان شائك الخلايا. كما سجل وجود التغيرات المرضية في بشرة الجيب الخدي للهامستر.

أما العينة السرطانية النموذجية المفترض ظهورها بعد تطبيق الـ DMBA، تكون الساحات فيها وصفية للسرطان شائك الخلايا.

دراسة مقاطع التجربة الرابعة الملونة بالتلوين التقليدي:

تمت دراسة المقاطع من العينة الأولى التي تلقت الأميجدالين حقناً بالبريتوان كعلاج بعد إحداث السرطان الفموي شائك الخلايا. فحصنا المقاطع النسيجية للعينات التي ترجع لفترات متلاحقة (خمسة أيام ثم عشر ثم خمسة عشر يوماً) وسجلنا وجود سرطان شائك الخلايا أو تراجع وغيابه وذلك في بشرة الجيب الخدي الذي كنا قد أحدثنا فيه السرطان.

أما العينة السرطانية النموذجية المفترض ظهورها بعد تطبيق الـ DMBA، تكون الساحات فيها وصفية للسرطان شائك الخلايا.

مراحل تلوين الخزعات بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للملون P53 (IHC) :

تمر العينات المراد تلوينها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي بالمراحل ذاتها التي ذُكرت بالنسبة لطريقة التلوين التقليدي، وذلك إلى مرحلة التقطيع على البشرة النسيجية وفرد العينة النسيجية في المحم المائي. تتبع بعدها مراحل مختلفة من العمل والتحضير كالتالي:

1. يتم حمل القطعة الشمعية الحاوية للنسيج على لامة خاصة بالتلوين المناعي.
2. توضع اللامات في فرن بدرجة حرارة ثابتة 55 مئوية مدة ساعتين.
3. تُمرر اللامات على حمامين من الكزيلول (مدة خمس دقائق لكل حمام) بغية إزالة

البارافين

4. تجفف اللامات من الكزيلول بتمريرها على حمامات من الكحول متتالية مدة خمس دقائق في كل حمام (كحول مطلق ثم بتركيز 95% وأخيراً بتركيز 70% على الترتيب).

5. تُغسل اللامات بعدها بلطف بالماء الجاري.

6. عملية استرجاع المستضد: تفقد المستقبلات البروتينية على سطح الخلية فعاليتها بسبب

إجراءات تحضير الخزعات، لذلك عملية استرجاع المستضد هامة، حتى تتمكن من جذب

الأضداد المستخدمة في الملونات المناعية (P53) نستخدم في هذه الخطوة محلول

استرجاع المستضد (Anti-gene retrival) الذي يُعدّ ويمدّد بالماء المقطر بنسبة 1 إلى

100 حسب تعليمات شركة Dako.

أ. توضع اللامات ضمن وعاء فيه المحلول المسترجع للمستضد، تكون كميته كافية وتغمر اللامات.

ب. يوضع الوعاء في المايكرويف ويترك مدة عشر دقائق بعد وصوله لدرجة الغليان. ثم يُترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة حوالي 20 دقيقة.

ج. توضع اللامات في وعاء يحتوي على المحلول الدائري PBS لمدة خمس دقائق وتُعاد هذه الخطوة مرة أخرى.

7. كابح البيروكسيداز Peroxidase blocker:

أ. يزال المحلول الدائري من على اللامات ومن حول العينة بلطف وباستخدام

المناديل الورقية

ب. نحدد باستخدام قلم التحديد من Dako حول الجزء النسيجي من العينة المراد

تلوينه مناعياً.

ج. يُطبق Poly detector peroxidase blocker على الجزء المحدد من العينة

على اللامة بحيث يغطيها كاملة، ويترك مدة خمس دقائق.

د. غسل اللامات من أثر البيروكسيداز باستخدام المحلول الدارئ.

هـ. توضع اللامات مرة أخرى في حمام من المحلول الدارئ مدة خمس دقائق.

8. تطبيق الضد الأولي للـ P53 Primary anti-body:

أ. تُغسل اللامات بالمحلول الدارئ ويُمسح حولها بلطف.

ب. يُطبق الضد الأولي باستخدام الممص (Pipette) ليغطي القطعة النسيجية داخل حدود قلم

التحديد بالكامل. يُترك مدة 45 دقيقة.

ج. تُغسل اللامات بعدها بالمحلول الدارئ وتوضع في حمام المحلول الدارئ مدة خمس

دقائق.

9. تطبيق Poly Detector HRP Label بواسطة الممص مدة 45 دقيقة. ثم تُغسل

بالمحلول الدارئ وتحضن بحمام من المحلول الدارئ لمدة خمس دقائق.

10. تطبيق DAB Substrate-Chromogen: حُضِرَ حسب تعليمات الشركة

المنتجة كالتالي: تم حل قطرة واحدة من Poly detector DAB chromogen لكل

1 مل من Poly detector DAB buffer. يُمزج بشكل جيد ضمن عبوة مناسبة

عازلة للضوء. يطبق المحلول الذي حصلنا عليه على العينة النسيجية المحددة ليغطيها

كاملةً لمدة عشرة دقائق.

11. تم بعدها غسل اللامات بالماء المقطر عدة مرات.

12. تطبيق الهيماتوكسيلين على اللامات مدة 30 دقيقة، ثم تُغسل بالماء.
13. جُففت من الماء بتمريرها على حمامات متتالية من الكحول (70% ثم 95% ثم الكحول المطلق) لمدة خمس دقائق في كل حمام.
14. سُئرت اللامات بالساترات الزجاجية بعد وضع بلسم كندا عليها، وأصبح جاهزة للدراسة النسيجية بالنسبة للملون الأول P53.

مراحل تلوين الخزعات بالتلوين الكيميائي المناعي النسيجي للملون BCL2:

- تمر بالمراحل ذاتها الوارد في الفقرة السابقة فيما يتعلق بالملون P53، باستثناء الخطوة رقم 6 فيما يخص استرجاع المستضد، عُدلت على النحو التالي: تُعد عملية استرجاع المستضد هامة، حتى تتمكن من جذب الأضداد المستخدمة في الملونات المناعية (BCL2) نستخدم في هذه الخطوة محلول استرجاع المستضد (Anti-gene retrieval) الذي يُعدّ ويمدد بالماء المقطر بنسبة 1 إلى 100 حسب تعليمات شركة Dako.
- د. توضع اللامات ضمن وعاء فيه المحلول المسترجع للمستضد، تكون كميته كافية وتغمر اللامات.
- هـ. يوضع الوعاء في المايكرويف ويترك مدة عشر دقائق بعد وصوله لدرجة الغليان. ثم يُترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة حوالي 20 دقيقة.
- و. توضع اللامات في وعاء يحتوي على المحلول الدائري PBS مدة خمس دقائق وتُعاد هذه الخطوة مرة أخرى.

عُدلت الخطوة الثامنة على النحو التالي:

تطبيق الضد الأولي للـ BCL2Primary anti-body:

- د. تُغسل اللامات بالمحلول الدارئ ويُمسح حولها بلطف.
- هـ. يُطبق الضد الأولي باستخدام الممص (Pipette) ليغطي القطعة النسيجية داخل حدود قلم التحديد بالكامل. يُترك مدة 45 دقيقة.
- و. تُغسل اللامات بعدها بالمحلول الدارئ وتوضع في حمام المحلول الدارئ مدة خمس دقائق.

مراحل تلوين الخزعات بالتلوين الكيميائي المناعي النسيجي للتلون β -catenin:

- تمر بالمراحل ذاتها الوارد في الفقرة الخاصة بالملون P53، باستثناء الخطوة رقم 6 فيما يخص استرجاع المستضد، عُدلت على النحو التالي: تُعد عملية استرجاع المستضد هامة، حتى تتمكن من جذب الأضداد المستخدمة في الملونات المناعية (β -catenin) نستخدم في هذه الخطوة محلول استرجاع المستضد (Anti-gene retrieval) الذي يُعدّ ويمدد بالماء المقطر بنسبة 1 إلى 100 حسب تعليمات شركة Dako.
- ز. توضع اللامات ضمن وعاء فيه المحلول المسترجع للمستضد، تكون كميته كافية وتغمر اللامات.

- ح. يوضع الوعاء في المايكرويف ويترك مدة عشر دقائق بعد وصوله لدرجة الغليان. ثم يُترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة حوالي 20 دقيقة.

ط. توضع اللامات في وعاء يحتوي على المحلول الدارئ PBS مدة خمس دقائق وتُعاد هذه الخطوة مرة أخرى.

عُدلت الخطوة الثامنة على النحو التالي:

تطبيق الضد الأولي للـ β -catenin Primary anti-body:

ز. تُغسل اللامات بالمحلول الدارئ ويُمسح حولها بلطف.

ح. يُطبق الضد الأولي باستخدام الممص (Pipette) ليغطي القطعة النسيجية داخل حدود قلم التحديد بالكامل. يُترك مدة 45 دقيقة.

ط. تُغسل اللامات بعدها بالمحلول الدارئ وتوضع في حمام المحلول الدارئ مدة خمس دقائق.

دراسة العينات النسيجية التي حصلنا عليها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للتجربة الثانية:

تمت دراسة المقاطع من العينة التي تلقت الأميجدالين المستورد بالطريق الفموي تناوباً مع المادة السرطانية. فحصنا مقاطع الجيب الخدي وسجلنا النسب المئوية الايجابية للخلايا الملونة كما هو موضح في الجدول رقم:7

	Bcl2	P53	β -catenin
العينة الوقائية 1	سلبي	سلبي	ايجابي 75%
العينة الوقائية 2	سلبي	سلبي	ايجابي 60%
العينة الوقائية 3	ايجابي 30%	سلبي	ايجابي 65%
العينة الوقائية 4	سلبي	ايجابي 35%	ايجابي 65%
العينة 5	سلبي	ايجابي 25%	ايجابي 65%
العينة 6	ايجابي 20%	سلبي	ايجابي 70%
العينة 7	ايجابي 20%	سلبي	ايجابي 70%
العينة 8	ايجابي 20%	ايجابي 20%	ايجابي 70%
العينة 9	ايجابي 20%	ايجابي 20%	ايجابي 70%
العينة 10	سلبي	سلبي	ايجابي 65%
العينة 11	سلبي	سلبي	ايجابي 60%
العينة 12	ايجابي 30%	ايجابي 20%	ايجابي 70%
العينة 13	ايجابي 30%	ايجابي 20%	ايجابي 65%
العينة 14	سلبي	سلبي	ايجابي 65%
العينة 15	سلبي	سلبي	ايجابي 60%

الجدول 3: نتائج التعبيرية الايجابية للملونات المناعية للعينة الثانية

دراسة العينات النسيجية التي حصلنا عليها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للتجربة الثالثة:

تمت دراسة المقاطع من العينة التي تلقت الأميجدالين المستورد بالحقن البريتواني. فحصنا مقاطع

الجيب الخدي وسجلنا النسب المئوية للمساحات الملونة الإيجابية كما هو موضح في الجدول رقم:8

	Bcl2	P53	β -catenin
بعد 10 ايام			
العينة 1	%30	%25	ايجابي %60
العينة 2	%30	%30	ايجابي %40
العينة 3	%30	%30	ايجابي %45
العينة 4	%35	%35	ايجابي %45
العينة 5	%30	%35	ايجابي %50
بعد 15 يوم			
العينة 6	%25	%20	ايجابي %50
العينة 7	%25	%25	ايجابي %50
العينة 8	%30	%25	ايجابي %60
العينة 9	%25	%20	ايجابي %50
العينة 10	%20	%20	ايجابي %50
بعد 20 يوم			
العينة 11	سلبي	سلبي	ايجابي %60
العينة 12	سلبي	سلبي	ايجابي %60
العينة 13	%30	%20	ايجابي %50
العينة 14	%30	%25	ايجابي %50
العينة 15	%25	%25	ايجابي %50

الجدول 4: نتائج التعبير الإيجابية للملونات المناعية للعينة الثالثة

دراسة العينات النسيجية التي حصلنا عليها بالتلوين الكيميائي النسيجي المناعي للتجربة

الرابعة:

تمت دراسة المقاطع من العينة التي تلقت الأميجدالين المستورد بالحقن البريتواني. فحصنا مقاطع

الجيب الخدي وسجلنا النسب المئوية للمساحات الملونة الإيجابية كما هو موضح في الجدول رقم:9

	Bcl2	P53	β -catenin
بعد 10 ايام			
العينة 1	%15	%20	ايجابي %50
العينة 2	%25	%25	ايجابي %60
العينة 3	%25	%25	ايجابي %60
العينة 4	%20	%20	ايجابي %60
العينة 5	%25	%20	ايجابي %55
بعد 15 يوم			
العينة 6	%25	%15	ايجابي %65
العينة 7	%25	%15	ايجابي %65
العينة 8	%30	%20	ايجابي %70
العينة 9	%20	%20	ايجابي %60
العينة 10	%20	%15	ايجابي %60
بعد 20 يوم			
العينة 11	سلبي	سلبي	ايجابي %60
العينة 12	سلبي	سلبي	ايجابي %70
العينة 13	سلبي	سلبي	ايجابي %70
العينة 14	%20	سلبي	ايجابي %65
العينة 15	%20	سلبي	ايجابي %65

الجدول 5: نتائج التعبيرية الايجابية للملونات المناعية في التجربة الرابعة

الباب الرابع: النتائج

Results

النتائج:

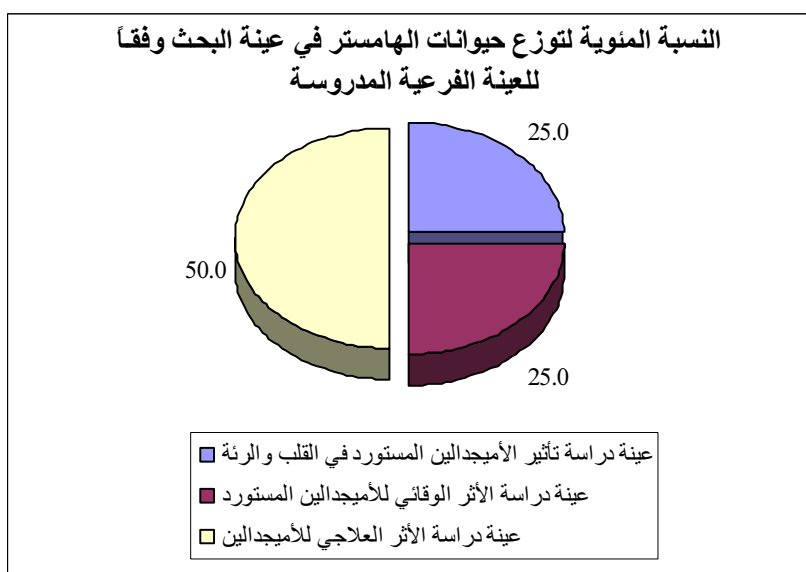
أولاً - وصف العينة:

تألفت عينة البحث من 60 حيوان هامستر كانوا مقسمين إلى ثلاث عينات فرعية مختلفة وفقاً للهدف المنشود (عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة، عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد، عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين). إذ كانت عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة مؤلفة من 15 حيوان هامستر كانوا مقسمين إلى مجموعتين رئيسيتين اثنتين وفقاً للفترة الزمنية للتضحية بالحيوان (بعد خمسة أيام، بعد عشرة أيام)، وتألفت عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد فقد كانت مؤلفة من 15 حيوان هامستر تمت التضحية بهم جميعاً بعد ثلاثة أشهر ونصف من إعطاء المادة العلاجية والمادة المسرطنة بالتناوب لكل منهم. أما عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين فقد كانت مؤلفة من 30 حيوان هامستر كانوا مقسمين إلى مجموعتين رئيسيتين اثنتين متساويتين وفقاً للمادة المستخدمة (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) وكانت كل من المجموعات الرئيسة مقسمة إلى ثلاث مجموعات فرعية متساوية وفقاً للفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً)، وقد كان توزع حيوانات الهامستر في عينة البحث وفقاً للعينة الفرعية المدروسة والمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة كما يلي:

1 - توزيع حيوانات الهامستر في عينة البحث وفقاً للعينة الفرعية المدروسة:

النسبة المئوية	عدد حيوانات الهامستر	العينة الفرعية المدروسة
25.0	15	عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة
25.0	15	عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد
50.0	30	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين
100	60	المجموع

الجدول 6 يبين توزيع عينة البحث وفقاً للعينة الفرعية المدروسة

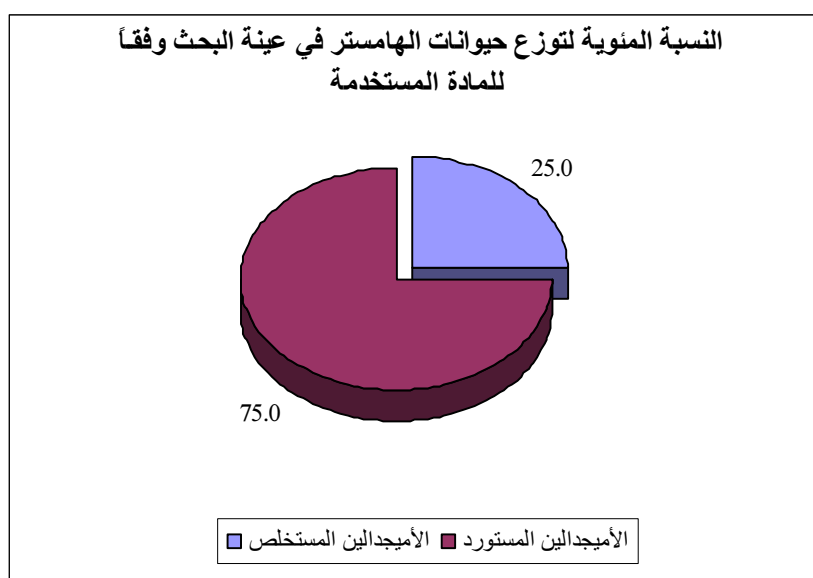


مخطط رقم 1 يمثل النسبة المئوية لتوزيع عينة البحث وفقاً للعينة الفرعية المدروسة

2-توزيع حيوانات الهامستر في عينة البحث وفقاً للمادة المستخدمة:

المادة المستخدمة	عدد حيوانات الهامستر	النسبة المئوية
الأميجدالين المستخلص	15	25.0
الأميجدالين المستورد	45	75.0
المجموع	60	100

الجدول 7 يبين توزيع عينة البحث وفقاً للمادة المستخدمة



مخطط رقم 2 يمثل النسب المئوية لتوزيع عينة البحث وفقاً للمادة المستخدمة

3-توزع عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة		
الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر	النسبة المئوية
بعد خمسة أيام	7	46.7
بعد عشرة أيام	8	53.3
المجموع	15	100

الجدول 8 يبين توزع عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

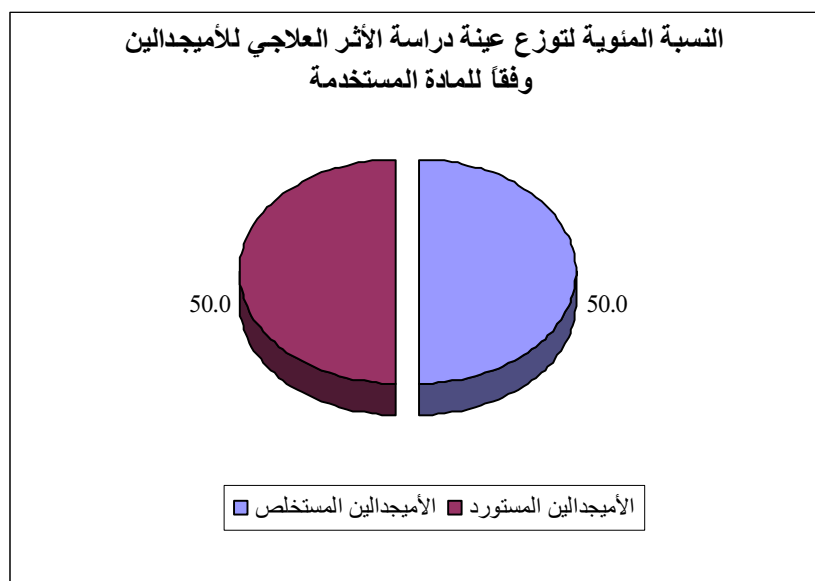


مخطط رقم 3 يمثل النسبة المئوية لتوزع عينة دراسة الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

4-توزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين		
المادة المستخدمة	عدد حيوانات الهامستر	النسبة المئوية
الأميجدالين المستخلص	15	50.0
الأميجدالين المستورد	15	50.0
المجموع	30	100

الجدول 9 يبين توزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة



مخطط رقم 4 يمثل النسبة المئوية لتوزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة

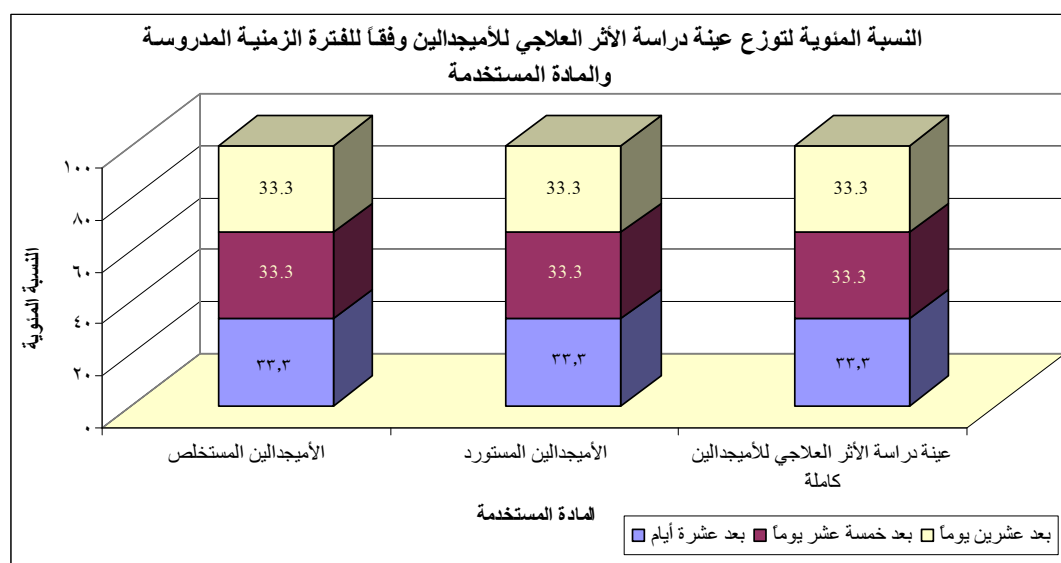
5-توزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

(يبين توزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة. لعينة 1 جدول رقم)

المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين

النسبة المئوية				عدد حيوانات الهامستر				المادة المستخدمة
المجموع	بعد عشرين يوماً	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرة أيام	المجموع	بعد عشرين يوماً	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرة أيام	
100	33.3	33.3	33.3	15	5	5	5	الأميجدالين المستخلص
100	33.3	33.3	33.3	15	5	5	5	الأميجدالين المستورد
100	33.3	33.3	33.3	30	10	10	10	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة

الجدول 10 يبين توزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 5 يمثل النسبة المئوية لتوزع عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

ثانياً - الدراسة الإحصائية التحليلية:

1 - دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة:

تمت مراقبة حالة كل من القلب والرئة لكل حيوان هامستر من حيوانات الهامستر المدروسة في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة. ثم تمت دراسة تأثير الفترة الزمنية المدروسة في تكرارات كل من حالة القلب وحالة الرئة في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وكانت نتائج التحليل كما يلي:

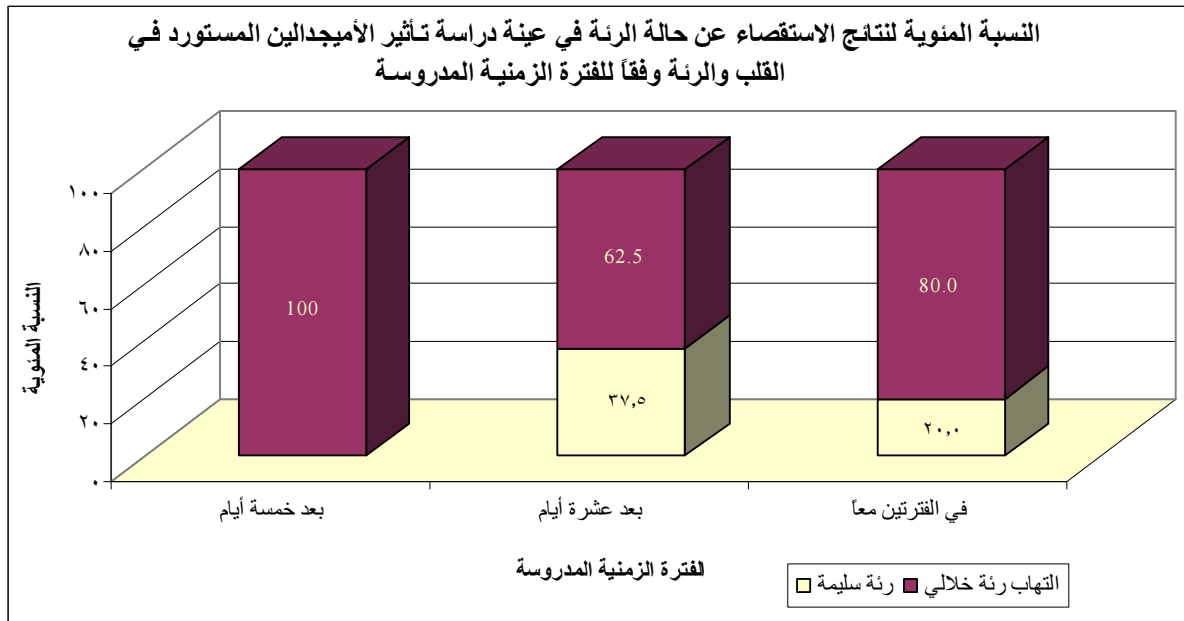
1- دراسة حالة الرئة:

◀ نتائج الاستقصاء عن حالة الرئة في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب

والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة (الأشكال 32 حتى 53):

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة						
النسبة المئوية			عدد حيوانات الهامستر			الفترة الزمنية المدروسة
المجموع	التهاب رئة خلالي	رئة سليمة	المجموع	التهاب رئة خلالي	رئة سليمة	
100	100	0	7	7	0	بعد خمسة أيام
100	62.5	37.5	8	5	3	بعد عشرة أيام
100	80.0	20.0	15	12	3	في الفترتين معاً

الجدول 11 يبين نتائج الاستقصاء عن حالة الرئة في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة



مخطط رقم 6 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن حالة الرئة في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

تم إجراء اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة، وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة:

جدول رقم (2) يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة، وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة					
المتغير المدروس	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
حالة الرئة	بعد خمسة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
	بعد عشرة أيام	0.500	1	0.480	لا توجد فروق دالة
	في الفترتين معاً	5.400	1	0.020	توجد فروق دالة

الجدول 12 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي، وبالتالي لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة الإصابة بالتهاب الرئة الخلالي في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام من عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة.

ولم يتم حساب قيمة كاي مربع للعينة الوحيدة في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة أيام لأن جميع حيوانات الهامستر كانت مصابة بالتهاب رئة خلالي في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة أيام، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين

تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة الإصابة بالتهاب الرئة الخلالي في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة أيام من عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة.

أما بالنسبة لعينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة كاملةً فيُلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الرئة السليمة وتكرارات التهاب الرئة الخلالي، وبالتالي توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة الإصابة بالتهاب الرئة الخلالي في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة كاملةً وبمراجعة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق (الجدول رقم 6) يُلاحظ أن نسبة الإصابة بالتهاب الرئة الخلالي كانت أكبر من 50% في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة كاملةً.

➤ دراسة تأثير الفترة الزمنية المدروسة في تكرارات حالة الرئة وفقاً للمادة

المستخدمة:

تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الرئة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة				
المتغيران المدروسان = حالة الرئة × الفترة الزمنية المدروسة				
عدد حيوانات الهامستر	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
15	3.281	1	0.070	لا توجد فروق دالة

الجدول 13 يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة الرئة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحية بها بعد خمسة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحية بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة أثر الأميجدالين المستورد في القلب والرئة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة الرئة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحية بها بعد خمسة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحية بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة.

2 - دراسة حالة القلب:

➤ نتائج الاستقصاء عن حالة القلب في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد

في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة						
الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر			النسبة المئوية		
	قلب سليم	قلب غير سليم	المجموع	قلب سليم	قلب غير سليم	المجموع
بعد خمسة أيام	7	0	7	100	0	100
بعد عشرة أيام	8	0	8	100	0	100
في الفترتين معاً	15	0	15	100	0	100

الجدول 14 يبين نتائج الاستقصاء عن حالة القلب في عينة دراسة أثر الأميجدالين المستورد في القلب والرئة وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن جميع حيوانات الهامستر كانت ذو قلب سليم مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات القلب السليم وتكرارات القلب غير السليم، وبالتالي نقرر أيضاً أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إصابة القلب في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام على حدة وفي عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة كاملةً.

ونقرر أيضاً أنه لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة القلب بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة تأثير الأميجدالين المستورد في القلب والرئة.

II - دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد في الإصابة بالسرطان شائك

الخلايا للرأس والعنق (الأشكال 38 حتى 45):

تمت مراقبة حالة البشرة (سليمة / غير سليمة) وتم تحديد درجة خطورة الآفة وتم تحديد سلبية وإيجابية تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin وتم حساب معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المذكورة لكل حيوان هامستر من حيوانات الهامستر المدروسة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد.

وقد تم إعطاء كل درجة من درجات خطورة الآفة قيمة متزايدة تصاعدياً وفقاً لشدة خطورة الآفة كما هو موضح في الجدول التالي:

القيمة الموافقة المعطاة	درجة خطورة الآفة
0	بشرة سليمة
1	توجد بعض التثخنات في البشرة
2	فرط تصنع
3	فرط تصنع وسوء تصنع
4	سوء تصنع بسيط
5	سوء تصنع متوسط
6	سوء تصنع شديد

الجدول 15 يبين الدرجات المعتمدة لخطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد والقيمة الموافقة المعطاة لكل درجة

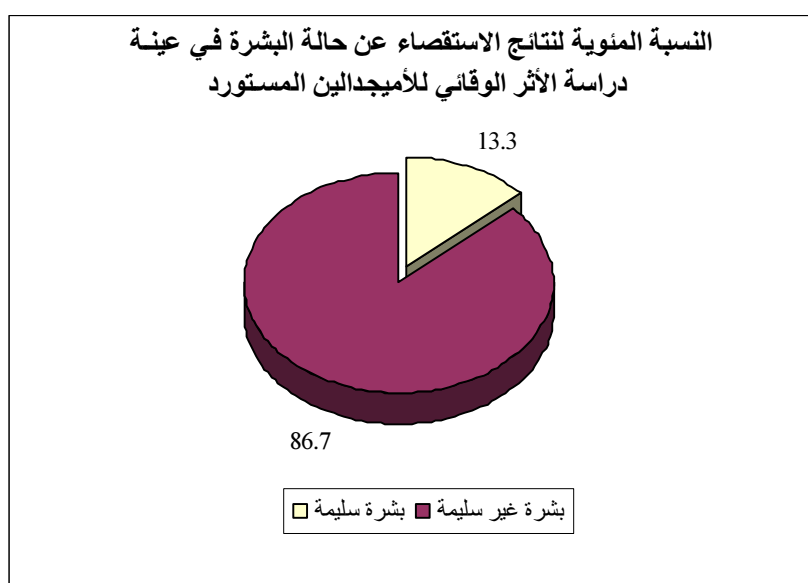
ثم تمت دراسة تأثير كل من الفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة في قيم المتغيرات المقاسة والمحسوبة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد وكانت نتائج التحليل كما يلي:

3 - دراسة حالة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

◀ نتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد		
حالة البشرة	عدد حيوانات الهامستر	النسبة المئوية
بشرة سليمة	2	13.3
بشرة غير سليمة	13	86.7
المجموع	15	100

الجدول 16 يبين نتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد



مخطط رقم 7 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد

◀ دراسة أثر الأميجدالين المستورد في تكرارات حالة البشرة في عينة دراسة

الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

تم إجراء اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد				
المتغير المدروس	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
حالة البشرة	8.067	1	0.005	توجد فروق دالة

الجدول 17 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة الفروق بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة، وبالتالي توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إصابة البشرة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد وبمراجعة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق (الجدول رقم 11) يُلاحظ أن نسبة حيوانات الهامستر الذين كانت لديهم البشرة غير السليمة كانت أكبر من 50% في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد.

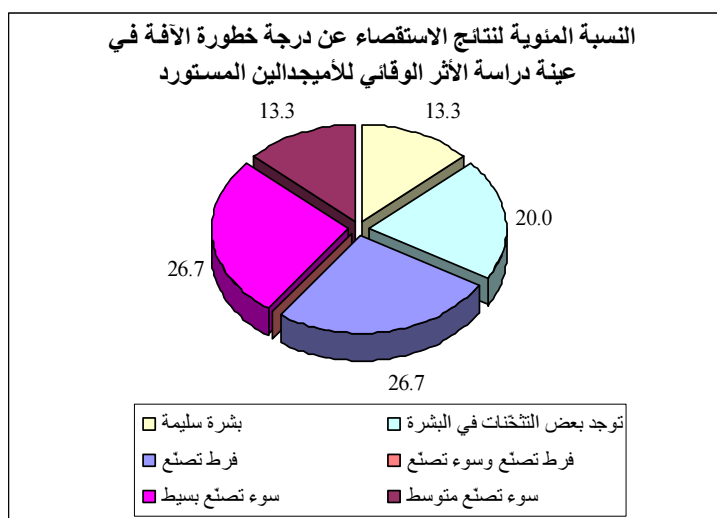
4 - دراسة درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

◀ نتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين

المستورد:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد		
درجة خطورة الآفة	عدد حيوانات الهامستر	النسبة المئوية
بشرة سليمة	2	13.3
توجد بعض التئخات في البشرة	3	20.0
فرط تصنع	4	26.7
فرط تصنع وسوء تصنع	0	0
سوء تصنع بسيط	4	26.7
سوء تصنع متوسط	2	13.3
المجموع	15	100

الجدول 18 يبين نتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد



مخطط رقم 8 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة

دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد

5 - دراسة تكرارات تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر الوقائي

للأميجدالين المستورد:

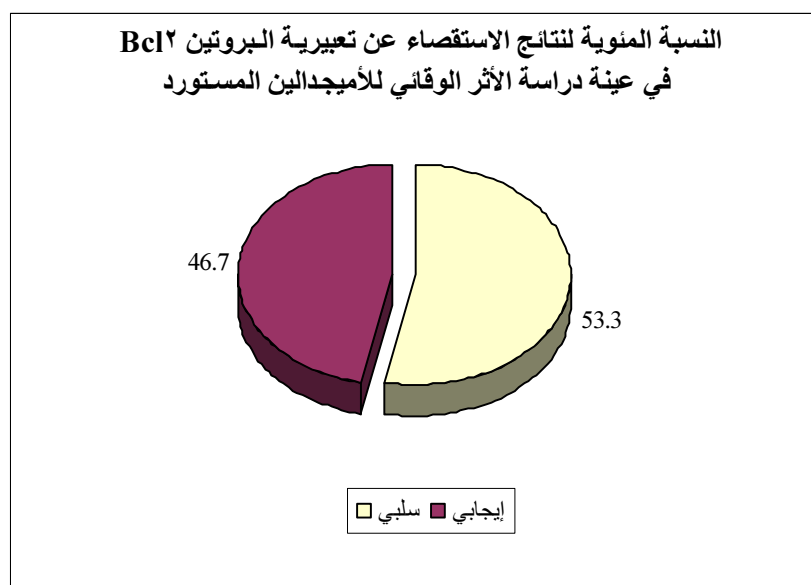
◀ نتائج الاستقصاء عن تكرارات تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر

الوقائي للأميجدالين المستورد:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد						
النسبة المئوية			عدد حيوانات الهامستر			البروتين المدروس
المجموع	إيجابي	سلبي	المجموع	إيجابي	سلبي	
100	46.7	53.3	15	7	8	البروتين Bcl2
100	40.0	60.0	15	6	9	البروتين P53
100	100	0	15	15	0	beta-Catanin

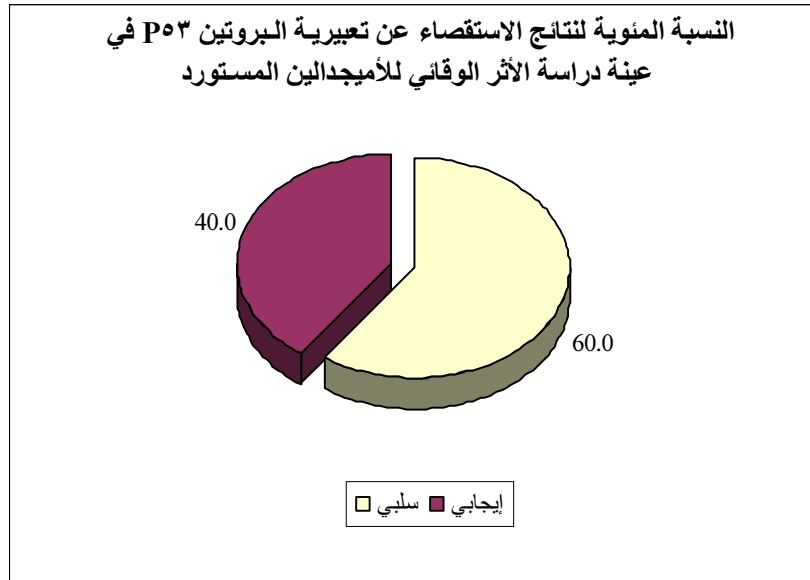
الجدول 19 يبين نتائج الاستقصاء عن تكرارات تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر الوقائي

للأميجدالين المستورد



مخطط رقم 9 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين BCL2 في

عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد



مخطط رقم 10 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين P53 في
عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد

➤ دراسة أثر الأميجدالين المستورد في تكرارات تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة

في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

تم إجراء اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الحالات السلبية

وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2

والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين

المستورد كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد					
المتغير المدروس	البروتين المدروس	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تكرارات تعبيرية البروتين المدروس	البروتين Bcl2	0.067	1	0.796	لا توجد فروق دالة
	البروتين P53	0.600	1	0.439	لا توجد فروق دالة
	beta-Catanin	-	-	-	توجد فروق دالة

الجدول 20 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الحالات السلبية والحالات الإيجابية في تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد.

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05 في كل من مجموعة البروتين Bcl2 ومجموعة البروتين P53، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53، وبالتالي لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إيجابية تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد.

ولم يتم حساب قيمة كاي مربع للعينة الوحيدة في مجموعة تعبيرية البروتين beta-Catanin لأن جميع حيوانات الهامستر كانت ذات تعبيرية إيجابية للبروتين beta-Catanin في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية البروتين beta-Catanin،

وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إيجابية تعبيرية

البروتين beta-Catanin في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد.

6 - دراسة معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة

دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

◀ المتوسط الحسابي لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة في

عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

- إحصاءات وصفية :

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد							
المتغير المدروس	البروتين المدروس	عدد حيوانات الهامستر	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
معدل إيجابية البروتين المدروس	البروتين Bcl2	15	11.33	13.02	3.36	0	30
	البروتين P53	15	9.33	12.37	3.19	0	35
	beta-Catanin	15	66.33	4.42	1.14	60	75

الجدول 21 يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل

من البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين

المستورد وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

◀ دراسة دلالة الفروق بين القيمة المعيارية (صفر) وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من

البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد:

تم إجراء اختبار T ستودنت للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين القيمة المعيارية (الصفر)

وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2 والبروتين P53

والبروتين beta-Catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد كما

يلي:

- نتائج اختبار T ستودنت للعينة الوحيدة:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد						
المتغير المدروس	البروتين المدروس	قيمة t المحسوبة	درجات الحرية	الفرق بين القيمة المعيارية والمتوسط الحسابي	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل إيجابية البروتين المدروس	البروتين Bcl2	3.371	14	11.33	0.005	توجد فروق دالة
	البروتين P53	2.921	14	9.33	0.011	توجد فروق دالة
	beta-Catanin	58.143	14	66.33	0.000	توجد فروق دالة

الجدول 22 يبين نتائج اختبار T ستودنت للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين القيمية المعيارية (الصفر) وقيم

معدل ايجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-

catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 مهما كان البروتين المدروس، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين القيم المعيارية (الصفر) ومتوسط وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2 والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد، وبما أن الإشارة الجبرية للفرق بين القيمة المعيارية والمتوسطات الحسابية كانت موجبة نستنتج أن قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2 والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin) كانت أكبر من القيمة المعيارية (الصفر) في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد.

III - دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين في الإصابة بالسرطان شائك الخلايا للرأس والعنق (الأشكال من 46 حتى 61):

تمت مراقبة حالة البشرة (سليمة / غير سليمة) وتم تحديد درجة خطورة الآفة وتم تحديد سلبية وإيجابية تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin وتم حساب معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المذكورة لكل حيوان هامستر من حيوانات الهامستر المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

وقد تم إعطاء كل درجة من درجات خطورة الآفة قيمة متزايدة تصاعدياً وفقاً لشدة خطورة الآفة كما هو موضح في الجدول التالي:

درجة خطورة الآفة	القيمة الموافقة المعطاة
بشرة سليمة	0
توجد بعض التئخّنات في البشرة	1
فرط تصنّع	2
فرط تصنّع وسوء تصنّع	3
سوء تصنّع بسيط	4
سوء تصنّع متوسط	5
سوء تصنّع شديد	6

الجدول 23 يبين الدرجات المعتمدة لخطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين والقيمة الموافقة المعطاة لكل درجة

ثم تمت دراسة تأثير كل من الفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة في قيم المتغيرات المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وكانت نتائج التحليل كما يلي:

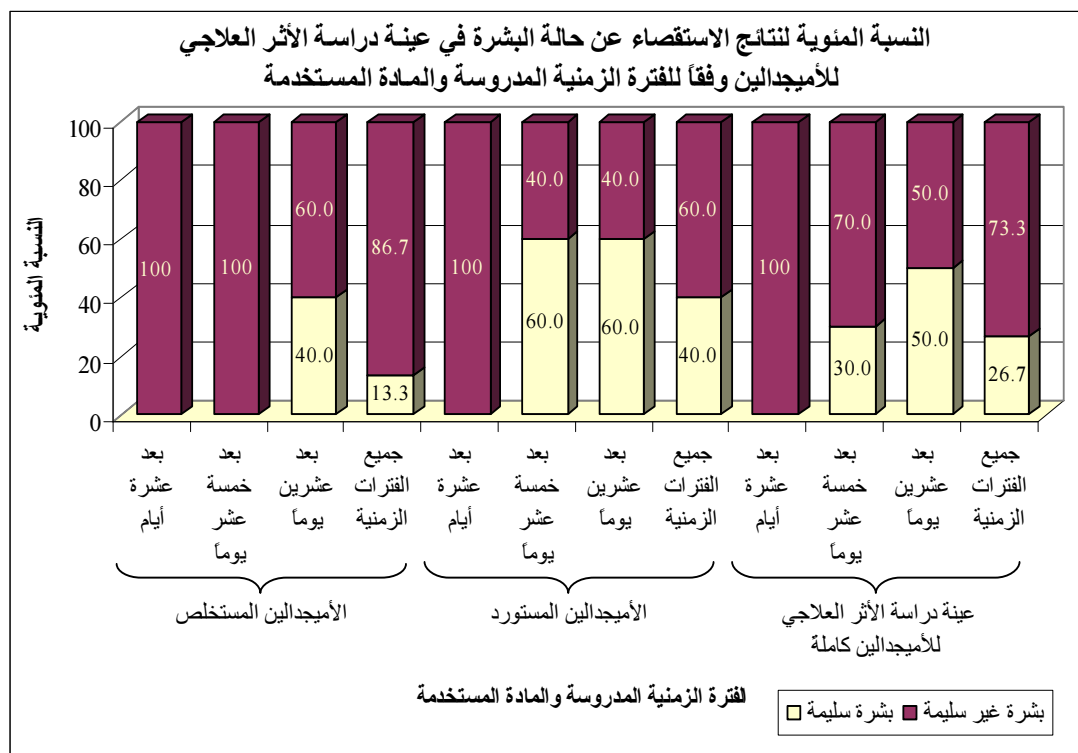
7 - دراسة حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين:

◀ نتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة

الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
النسبة المئوية			عدد حيوانات الهامستر			الفترة الزمنية المدروسة	المادة المستخدمة
المجموع	بشرة غير سليمة	بشرة سليمة	المجموع	بشرة غير سليمة	بشرة سليمة		
100	100	0	5	5	0	بعد عشرة أيام	الأميجدالين المستخلص
100	100	0	5	5	0	بعد خمسة عشر يوماً	
100	60.0	40.0	5	3	2	بعد عشرين يوماً	
100	86.7	13.3	15	13	2	في جميع الفترات	
100	100	0	5	5	0	بعد عشرة أيام	الأميجدالين المستورد
100	40.0	60.0	5	2	3	بعد خمسة عشر يوماً	
100	40.0	60.0	5	2	3	بعد عشرين يوماً	
100	60.0	40.0	15	9	6	في جميع الفترات	
100	100	0	10	10	0	بعد عشرة أيام	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة
100	70.0	30.0	10	7	3	بعد خمسة عشر يوماً	
100	50.0	50.0	10	5	5	بعد عشرين يوماً	
100	73.3	26.7	30	22	8	في جميع الفترات	

الجدول 24 يبين نتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 11 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

➤ دراسة أثر الأميجدالين في تكرارات حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي

للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

تم إجراء اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين						
المتغير المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
حالة البشرة	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	0.200	1	0.655	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	8.067	1	0.005	توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	0.200	1	0.655	لا توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	0.200	1	0.655	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	0.600	1	0.439	لا توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	1.600	1	0.206	لا توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	0	1	1.000	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	6.533	1	0.011	توجد فروق دالة

الجدول 25 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 في جميع الفترات الزمنية عموماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة،

أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة، وبالتالي توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إصابة البشرة في جميع الفترات الزمنية عموماً في مجموعة الأُميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين كاملةً، وبمراجعة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق (الجدول رقم 19) يُلاحظ أن نسبة حيوانات الهامستر الذين كانت لديهم البشرة غير السليمة كانت أكبر من 50%، وذلك في جميع الفترات الزمنية عموماً في مجموعة الأُميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين كاملةً.

ولم يتم حساب قيمة كاي مربع للعينة الوحيدة في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام مهما كانت المادة المستخدمة وفي مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً في مجموعة الأُميجدالين المستخلص لأن البشرة كانت غير سليمة في كل حيوانات الهامستر في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام مهما كانت المادة المستخدمة ولأن جميع حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً كانت البشرة فيها غير سليمة في مجموعة الأُميجدالين المستخلص، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة الإصابة بالبشرة غير السليمة في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام مهما كانت المادة المستخدمة وفي مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً من مجموعة الأُميجدالين المستخلص من عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين.

أما بالنسبة لباقي المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات البشرة السليمة وتكرارات البشرة غير السليمة، وبالتالي لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة الإصابة بالبشرة غير السليمة في كل من المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة المعنية في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين

➤ دراسة تأثير الفترة الزمنية المدروسة في تكرارات حالة البشرة وفقاً للمادة المستخدمة:
تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للمادة المستخدمة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
المتغيران المدروسان = حالة البشرة × الفترة الزمنية المدروسة							
المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة (أ)	الفترة الزمنية المدروسة (ب)	عدد حيوانات الهامستر	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	10	2.500	1	0.114	لا توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	10	2.500	1	0.114	لا توجد فروق دالة
الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	10	4.286	1	0.038	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	10	4.286	1	0.038	توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	10	0	1	1.000	لا توجد فروق دالة
عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	20	3.529	1	0.060	لا توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	20	6.667	1	0.0098	توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	20	0.833	1	0.361	لا توجد فروق دالة

الجدول 26 يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة في تكرارات حالة البشرة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام وكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً على حدة في مجموعة الأميجدالين المستورد، وعند المقارنة في تكرارات حالة البشرة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعات الفترة الزمنية المذكورة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وبدراسة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق (الجدول رقم 28) يُلاحظ أن نسبة إصابة البشرة في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً كانت أصغر منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام في مجموعة الأميجدالين المستورد، ويُلاحظ أن نسبة إصابة البشرة في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً كانت أصغر منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً.

ولم يتم حساب كاي مربع عند المقارنة في تكرارات حالة البشرة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص لأن جميع الحيوانات كانوا ذوي بشرة غير سليمة في المجموعتين المدروستين، وبالتالي نقرر أنه لا توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في

تكرارات حالة البشرة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة المعنية في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

➤ دراسة تأثير المادة المستخدمة في تكرارات حالة البشرة في عينة دراسة الأثر العلاجي

للاميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة البشرة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين					
المتغيران المدروسان = حالة البشرة × المادة المستخدمة					
الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
بعد عشرة أيام	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
بعد خمسة عشر يوماً	10	4.286	1	0.038	توجد فروق دالة
بعد عشرين يوماً	10	0.400	1	0.527	لا توجد فروق دالة
جميع الفترات الزمنية	30	2.727	1	0.099	لا توجد فروق دالة

الجدول 27 يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حالة البشرة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد خمسة عشر يوماً، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد خمسة عشر يوماً من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وبدراسة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق يُلاحظ أن نسبة إصابة البشرة في مجموعة الأميجدالين المستخلص كانت أكبر منها في مجموعة الأميجدالين المستورد في مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد خمسة عشر يوماً من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لمجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد عشرة أيام فلم يتم حساب قيمة كاي مربع الموافقة لأن جميع حيوانات الهامستر المضحى بهم بعد عشرة أيام كانوا ذوي بشرة غير

سليمة مهما كانت المادة المستخدمة، وبالتالي نقرر أنه لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً وبالنسبة لعينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات حالة البشرة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً.

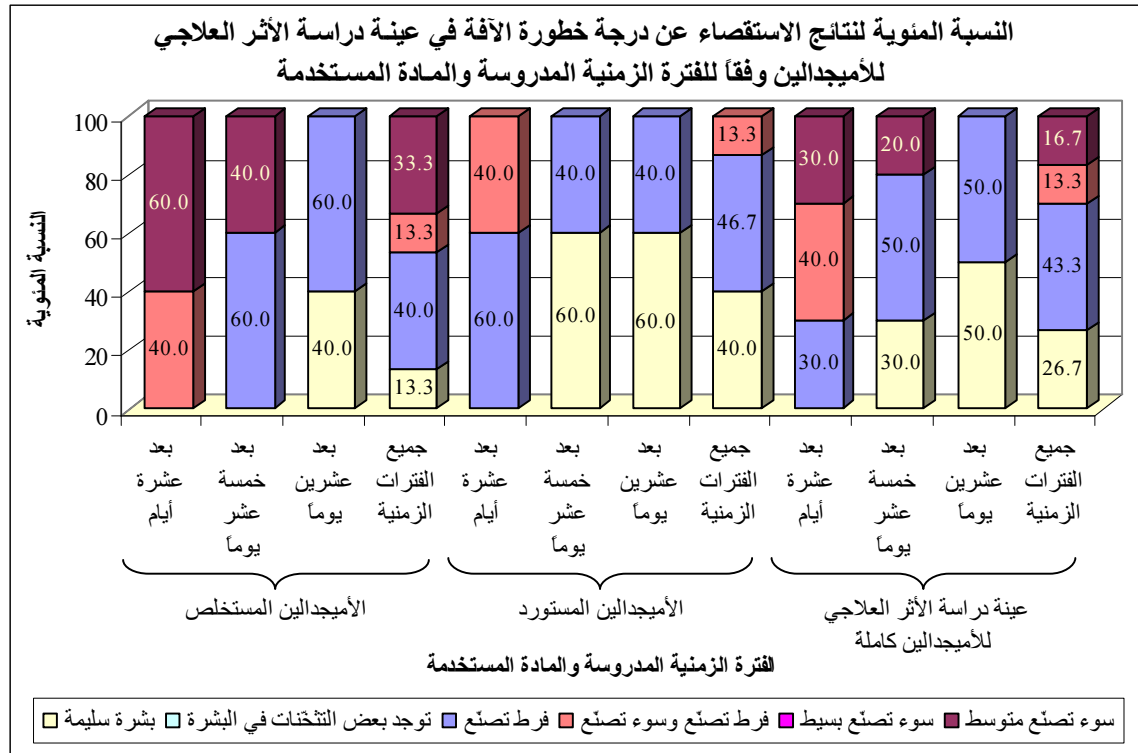
8 - دراسة درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين:

◀ نتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً

للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين															
المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر										النسبة المئوية			
		بشرة سليمة	التئخات في البشرة	قرط تصنع	تصنع	سوء تصنع بسيط	سوء تصنع متوسط	المجموع	بشرة سليمة	التئخات في البشرة	قرط تصنع	تصنع	سوء تصنع بسيط	سوء تصنع متوسط	المجموع
الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	0	0	0	2	0	3	5	0	0	0	0	0	60.0	100
	بعد خمسة عشر يوماً	0	0	3	0	0	2	5	0	0	0	0	0	40.0	100
	بعد عشرين يوماً	2	0	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	100
	جميع الفترات الزمنية	2	0	6	2	0	5	15	0	0	0	0	0	33.3	100
الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	0	0	3	2	0	0	5	0	0	0	0	0	40.0	100
	بعد خمسة عشر يوماً	3	0	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0	40.0	100
	بعد عشرين يوماً	3	0	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0	40.0	100
	جميع الفترات الزمنية	6	0	7	2	0	0	15	0	0	0	0	0	46.7	100
عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	0	0	3	4	0	3	10	0	0	0	0	0	30.0	100
	بعد خمسة عشر يوماً	3	0	5	0	0	2	10	0	0	0	0	0	50.0	100
	بعد عشرين يوماً	5	0	5	0	0	0	10	0	0	0	0	0	50.0	100
	جميع الفترات الزمنية	8	0	13	4	0	5	30	0	0	0	0	0	43.3	100

الجدول 28 يبين نتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 12 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن درجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

دراسة تأثير الفترة الزمنية المدروسة في تكرارات درجة خطورة الآفة وفقاً للمادة

المستخدمة:

تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة خطورة الآفة بين

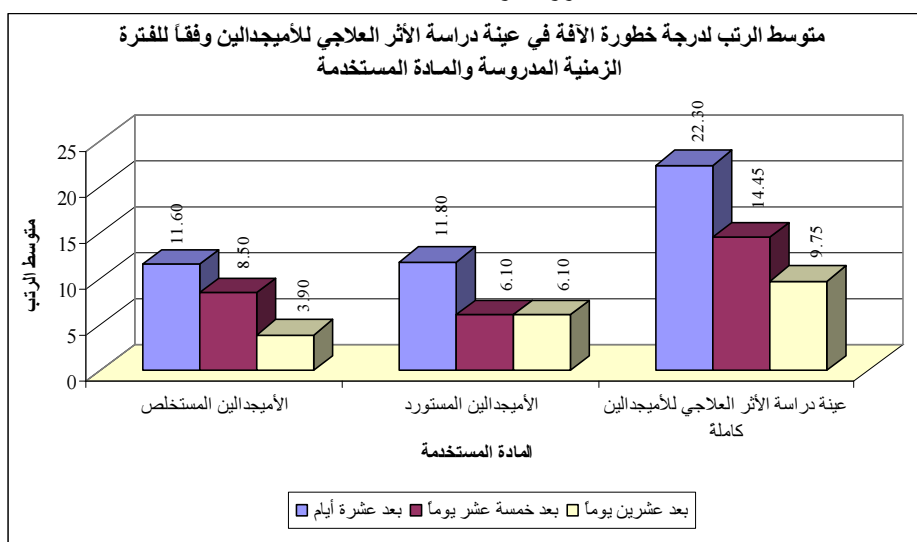
مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في

عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للمادة المستخدمة كما يلي:

- إحصاءات الرتب

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين			
المتغير المدروس = درجة خطورة الآفة			
المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر	متوسط الرتب
الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	5	11.6
	بعد خمسة عشر يوماً	5	8.5
	بعد عشرين يوماً	5	3.9
الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	5	11.8
	بعد خمسة عشر يوماً	5	6.1
	بعد عشرين يوماً	5	6.1
عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	10	22.3
	بعد خمسة عشر يوماً	10	14.45
	بعد عشرين يوماً	10	9.75

الجدول 29 يبين متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 13 يمثل متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

- نتائج اختبار Kruskal-Wallis :

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين				
المتغير المدروس = درجة خطورة الآفة				
المادة المستخدمة	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
الأميجدالين المستخلص	8.355	2	0.015	توجد فروق دالة
الأميجدالين المستورد	6.479	2	0.039	توجد فروق دالة
عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	11.609	2	0.003	توجد فروق دالة

الجدول 30 يبين نتائج اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 مهما كانت المادة المستخدمة (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين اثنتين على الأقل من مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة، ولمعرفة أي المجموعات تختلف عن الأخريات جوهرياً في تكرارات درجة خطورة الآفة تم إجراء اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة كما يلي:

- نتائج اختبار Mann-Whitney U:

العينه المدروسة = عينه دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين					
المتغير المدروس = درجة خطورة الآفة					
المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة (أ)	الفترة الزمنية المدروسة (ب)	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	7.0	0.212	لا توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	0	0.007	<u>توجد فروق دالة</u>
	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	4.5	0.058	لا توجد فروق دالة
الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	3.0	0.031	<u>توجد فروق دالة</u>
		بعد عشرين يوماً	3.0	0.031	<u>توجد فروق دالة</u>
	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	12.5	1.000	لا توجد فروق دالة
عينه دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	24.5	0.043	<u>توجد فروق دالة</u>
		بعد عشرين يوماً	7.5	0.001	<u>توجد فروق دالة</u>
	بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	35.0	0.208	لا توجد فروق دالة

الجدول 31 يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينه دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة في تكرارات

درجة خطورة الآفة بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام وكل من

مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر

المضحي بها بعد عشرين يوماً على حدة في مجموعة الأميجدالين المستورد وفي عينه دراسة

الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة، وعند المقارنة في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعة

حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد

عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المذكورة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وبدراسة قيم متوسطات الرتب نستنتج أن درجة خطورة الآفة في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً كانت أقل منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام في مجموعة الأميجدالين المستورد وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة، ونستنتج أن درجة خطورة الآفة في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً كانت أقل منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام في مجموعة الأميجدالين المستخلص من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة المعنية في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

◀ دراسة تأثير المادة المستخدمة في تكرارات درجة خطورة الآفة في عينة

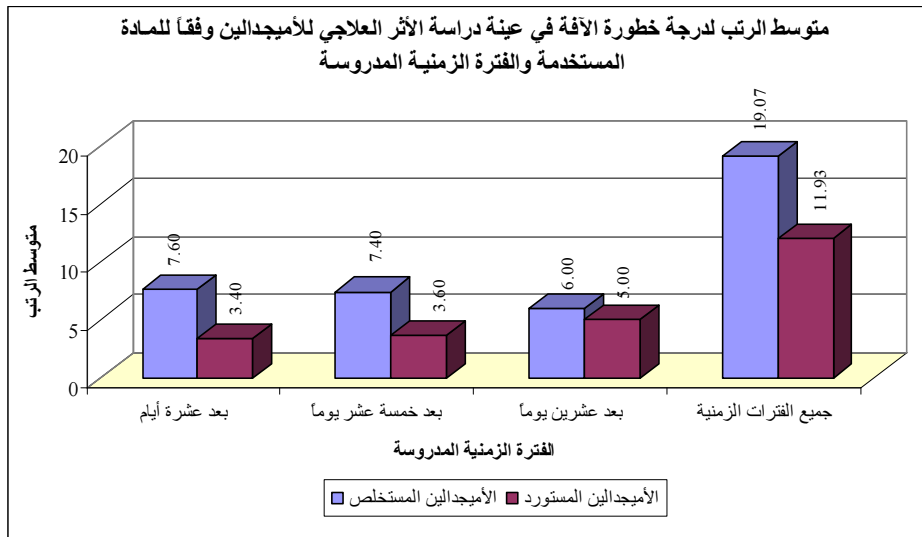
دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

تم إجراء اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة كما يلي:

- إحصاءات الرتب:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأمجدالين				
المتغير المدروس	الفترة الزمنية المدروسة	المادة المستخدمة	عدد حيوانات الهامستر	متوسط الرتب
درجة خطورة الآفة	بعد عشرة أيام	الأمجدالين المستخلص	5	7.60
		الأمجدالين المستورد	5	3.40
	بعد خمسة عشر يوماً	الأمجدالين المستخلص	5	7.40
		الأمجدالين المستورد	5	3.60
	بعد عشرين يوماً	الأمجدالين المستخلص	5	6.00
		الأمجدالين المستورد	5	5.00
	جميع الفترات الزمنية	الأمجدالين المستخلص	15	19.07
		الأمجدالين المستورد	15	11.93

الجدول 32 يبين متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة



مخطط رقم 14 يمثل متوسط الرتب لدرجة خطورة الآفة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأمجدالين وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة

نتائج اختبار Mann-Whitney U:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين				
المتغير المدروس	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة U	قيمة مستوى دلالة الفروق	دلالة الفروق الثنائية
درجة خطورة الآفة	بعد عشرة أيام	2.0	0.020	توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	3.0	0.031	توجد فروق دالة
	بعد عشرين يوماً	10.0	0.549	لا توجد فروق دالة
	جميع الفترات الزمنية	59.0	0.019	توجد فروق دالة

الجدول 33 يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً وفي جميع الفترات الزمنية عموماً فيلاحظ أن قيمة

مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة خطورة الآفة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد)، وبدراسة قيم متوسطات الرتب نستنتج أن درجة خطورة الآفة في مجموعة الأميجدالين المستخلص كانت أعلى منها في مجموعة الأميجدالين المستورد، وذلك في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً.

9 - دراسة تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين:

◀ نتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

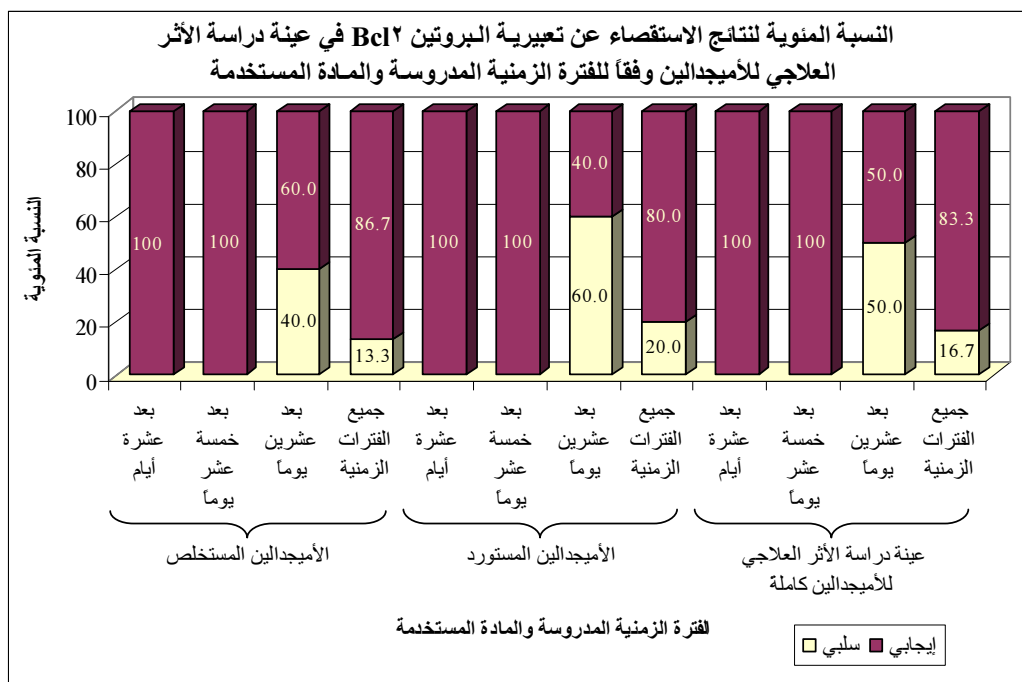
العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين								
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر			النسبة المئوية		
			سلبي	إيجابي	المجموع	سلبي	إيجابي	المجموع
البروتين Bcl2	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	0	5	5	0	100	100
		بعد خمسة عشر يوماً	0	5	5	0	100	100
		بعد عشرين يوماً	2	3	5	40.0	60.0	100
		في جميع الفترات	2	13	15	13.3	86.7	100
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	0	5	5	0	100	100
		بعد خمسة عشر يوماً	0	5	5	0	100	100
		بعد عشرين يوماً	3	2	5	60.0	40.0	100
		في جميع الفترات	3	12	15	20.0	80.0	100
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	0	10	10	0	100	100
		بعد خمسة عشر يوماً	0	10	10	0	100	100
		بعد عشرين يوماً	5	5	10	50.0	50.0	100
		في جميع الفترات	5	25	30	16.7	83.3	100
البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	0	5	5	0	100	100
		بعد خمسة عشر يوماً	0	5	5	0	100	100
		بعد عشرين يوماً	2	3	5	40.0	60.0	100
		في جميع الفترات	2	13	15	13.3	86.7	100
	الأميجدالين	بعد عشرة أيام	0	5	5	0	100	100

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين								
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر			النسبة المئوية		
			المجموع	إيجابي	سلبي	المجموع	إيجابي	سلبي
	المستورد	بعد خمسة عشر يوماً	5	5	0	100	100	0
		بعد عشرين يوماً	5	0	5	100	0	100
		في جميع الفترات	15	10	5	100	66.7	33.3
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	10	10	0	100	100	0
		بعد خمسة عشر يوماً	10	10	0	100	100	0
		بعد عشرين يوماً	10	3	7	100	30.0	70.0
		في جميع الفترات	30	23	7	100	76.7	23.3
	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	5	5	0	100	100	0
		بعد خمسة عشر يوماً	5	5	0	100	100	0
		بعد عشرين يوماً	5	5	0	100	100	0
		في جميع الفترات	15	15	0	100	100	0
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	5	5	0	100	100	0
		بعد خمسة عشر يوماً	5	5	0	100	100	0
		بعد عشرين يوماً	5	5	0	100	100	0
		في جميع الفترات	15	15	0	100	100	0
beta-Catanin	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	10	10	0	100	100	0
		بعد خمسة عشر يوماً	10	10	0	100	100	0
		بعد عشرين يوماً	10	10	0	100	100	0
		في جميع الفترات	30	30	0	100	100	0

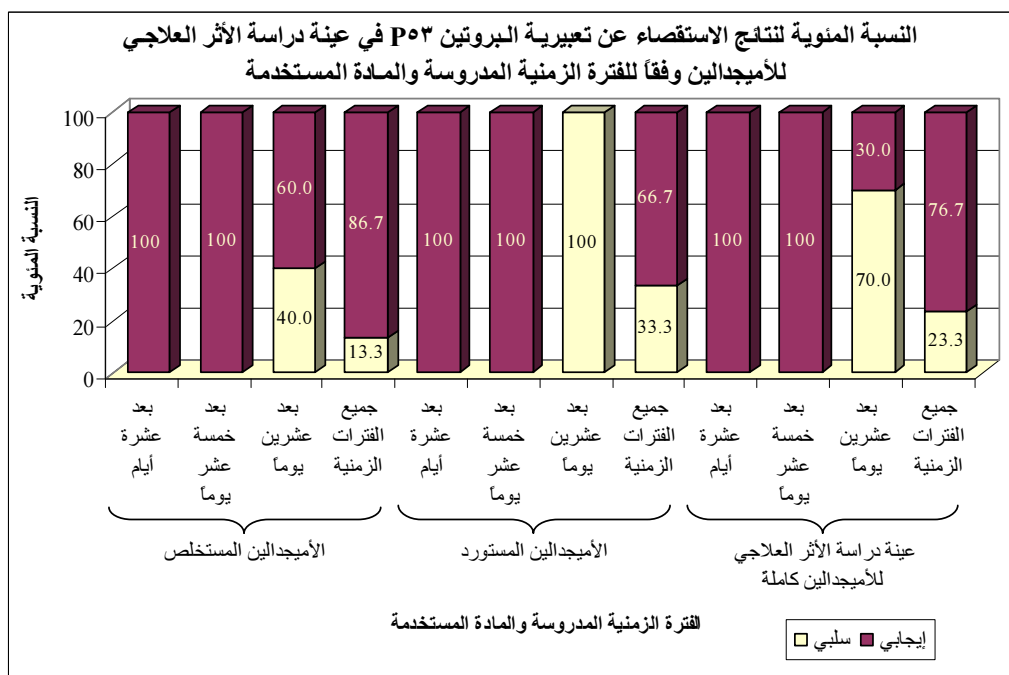
الجدول 34 يبين نتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن جميع حيوانات الهامستر كانت ذات تعبيرية إيجابية للبروتين beta-Catanin مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة ومهما كانت المادة المستخدمة، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية البروتين beta-Catanin، وبالتالي نقرر أيضاً أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إيجابية تعبيرية البروتين beta-Catanin مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة ومهما كانت المادة المستخدمة.

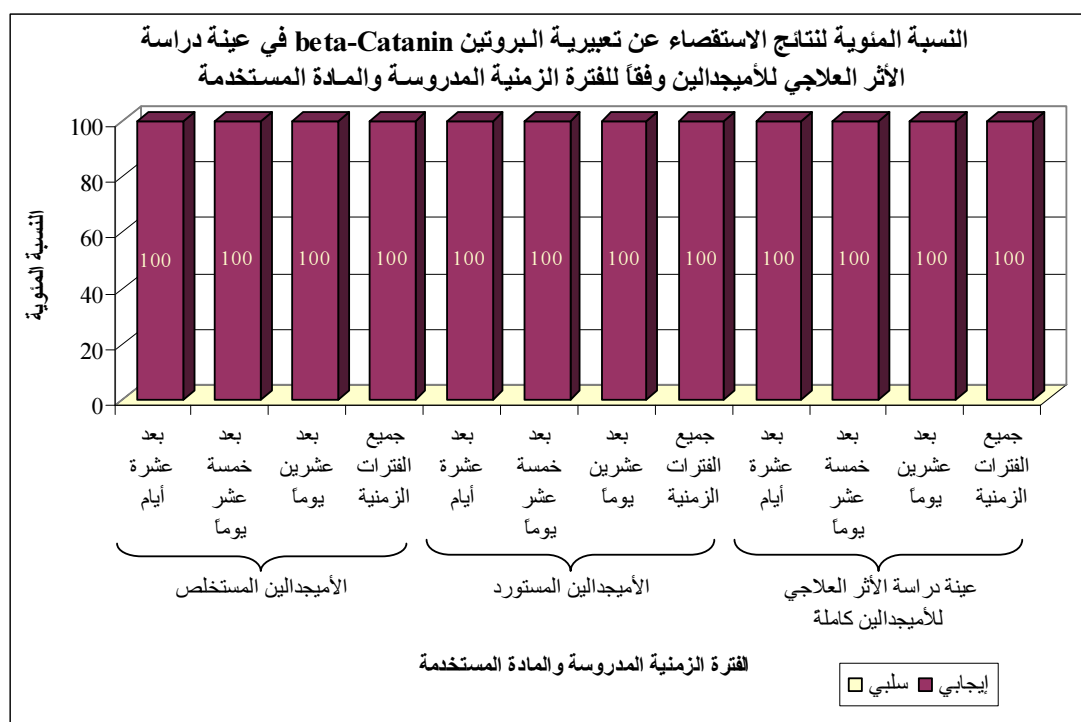
ونقرر أيضاً أنه لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية البروتين beta-Catanin بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً مهما كانت المادة المستخدمة، وكذلك نقرر أيضاً أنه لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية البروتين beta-Catanin بين مجموع الأميجدالين المستخلص ومجموعة الأميجدالين المستورد مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.



مخطط رقم 15 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين BCL-2 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة.



مخطط رقم 16 يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين P53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 17 يمثل النسب المئوية لنتائج الاستقصاء عن تعبيرية البروتين beta-catenin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

دراسة أثر الأميجدالين في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في

عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

تم إجراء اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الحالات السلبية

وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 على حدة في

عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
المتغير المدرس	البروتين المدرس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدالة	دلالة الفروق
تعبيرية البروتين Bcl2 المدرس	الأميجدالين المستخلص		بعد عشرة أيام	-	-	-	<u>توجد فروق دالة</u>
			بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	<u>توجد فروق دالة</u>
			بعد عشرين يوماً	0.200	1	0.655	لا توجد فروق دالة
			في جميع الفترات	8.067	1	0.005	<u>توجد فروق دالة</u>
	الأميجدالين المستورد		بعد عشرة أيام	-	-	-	<u>توجد فروق دالة</u>
			بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	<u>توجد فروق دالة</u>
			بعد عشرين يوماً	0.200	1	0.655	لا توجد فروق دالة
			في جميع الفترات	5.400	1	0.020	<u>توجد فروق دالة</u>
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة		بعد عشرة أيام	-	-	-	<u>توجد فروق دالة</u>
			بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	<u>توجد فروق دالة</u>
			بعد عشرين يوماً	0	1	1.000	لا توجد فروق دالة
			في جميع الفترات	13.333	1	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
المتغير المدرس	البروتين المدرس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
	البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
			بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	0.200	1	0.655	لا توجد فروق دالة
			في جميع الفترات	8.067	1	0.005	توجد فروق دالة
	البروتين P53	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
			بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	-	-	-	توجد فروق دالة
			في جميع الفترات	1.667	1	0.197	لا توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	-	-	-	توجد فروق دالة
			بعد خمسة عشر يوماً	-	-	-	توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	1.600	1	0.206	لا توجد فروق دالة
			في جميع الفترات	8.533	1	0.003	توجد فروق دالة

الجدول 35 يبين نتائج اختبار كاي مربع للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الايجابية في تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin على حدة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 بالنسبة للبروتين Bcl2 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً، وبالنسبة للبروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً وفي جميع الفترات الزمنية عموماً في مجموعة الأميجدالين المستورد، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية البروتين Bcl2 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً وكذلك لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً وفي جميع الفترات الزمنية عموماً في مجموعة الأميجدالين المستورد، في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

ولم يتم حساب قيمة كاي مربع للعينة الوحيدة لكل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً لأن جميع حيوانات الهامستر كانت ذات تعبيرية إيجابية لكل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في كل من المجموعات الفرعية المذكورة، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق

ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في كل من المجموعات الفرعية المذكورة، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إيجابية تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً. ولم يتم حساب قيمة كاي مربع للعينة الوحيدة بالنسبة للبروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد لأن جميع حيوانات الهامستر في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد كانت ذات تعبيرية سلبية للبروتين P53 في المجموعة المذكورة، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد، وبالتالي نقرر أنه توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إيجابية تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لباقي المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين تكرارات الحالات السلبية وتكرارات الحالات الإيجابية، وبالتالي توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين النسبة 50% ونسبة إيجابية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في كل

من المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة المعنية في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

◀ دراسة تأثير الفترة الزمنية المدروسة في تكرارات تعبيرية كل من البروتين **Bcl2** والبروتين **P53** وفقاً للمادة المستخدمة:

تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق الثنائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين **Bcl2** والبروتين **P53** بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للمادة المستخدمة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين								
المتغيران المدروسان = تعبيرية البروتين المدروس × الفترة الزمنية المدروسة								
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة (أ)	الفترة الزمنية المدروسة (ب)	عدد حيوانات الهامستر	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
البروتين Bcl2	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	10	2.500	1	0.114	لا توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	10	2.500	1	0.114	لا توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	10	4.286	1	0.038	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	10	4.286	1	0.038	توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	20	-	-	-	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	20	6.667	1	0.0098	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	20	6.667	1	0.0098	توجد فروق دالة
البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	10	2.500	1	0.114	لا توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	10	2.500	1	0.114	لا توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	10	10.000	1	0.002	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	10	10.000	1	0.002	توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	20	-	-	-	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	20	10.769	1	0.001	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	20	10.769	1	0.001	توجد فروق دالة

الجدول 36 يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة الفروق الثنائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً وكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة في مجموعة الأميجدالين المستورد وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعات الفترة الزمنية المذكورة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وبدراسة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق (الجدول رقم 19) يُلاحظ أن نسبة إيجابية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً كانت أصغر منها في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة في مجموعة الأميجدالين المستورد وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة.

ولم يتم حساب كاي مربع عند المقارنة في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة لأن جميع الحيوانات كانت ذات تعبيرية إيجابية في المجموعتين المدروستين، وبالتالي نقرر أنه لا توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة

حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً مهما كانت المادة المستخدمة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً.

أما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً وكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة في مجموعة الأميجدالين المستخلص من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

◀ دراسة تأثير المادة المستخدمة في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين						
المتغيران المدروسان = تعبيرية البروتين المدروس × المادة المستخدمة						
البروتين المدروس	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
Bcl2 البروتين	بعد عشرة أيام	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
	بعد عشرين يوماً	10	0.400	1	0.527	لا توجد فروق دالة
	جميع الفترات الزمنية	30	0.240	1	0.624	لا توجد فروق دالة
P53 البروتين	بعد عشرة أيام	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	10	-	-	-	لا توجد فروق دالة
	بعد عشرين يوماً	10	4.286	1	0.038	توجد فروق دالة
	جميع الفترات الزمنية	30	1.677	1	0.195	لا توجد فروق دالة

الجدول 37 يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة الفروق في تكرار تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 بالنسبة لتعبيرية البروتين

P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً، أي أنه عند مستوى الثقة

95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية البروتين P53 بين مجموعتي المادة

المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة

حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين،

وبدراسة جدول التكرارات والنسب المئوية الموافق (الجدول رقم 28) يُلاحظ أن نسبة إيجابية

تعبيرية البروتين P53 في مجموعة الأميجدالين المستخلص كانت أكبر منها في مجموعة الأميجدالين المستورد في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً فلم يتم حساب قيم كاي مربع الموافقة لأن جميع حيوانات الهامستر في المجموعتين المذكورتين كانت تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 لديهم إيجابية مهما كانت المادة المستخدمة، وبالتالي نقرر أنه لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لتعبيرية البروتين Bcl2 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً وبالنسبة لتعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية البروتين Bcl2 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً، وكذلك لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات تعبيرية كل من البروتين Bcl2 والبروتين P53 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً.

10 - دراسة معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين:

◀ المتوسط الحسابي لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

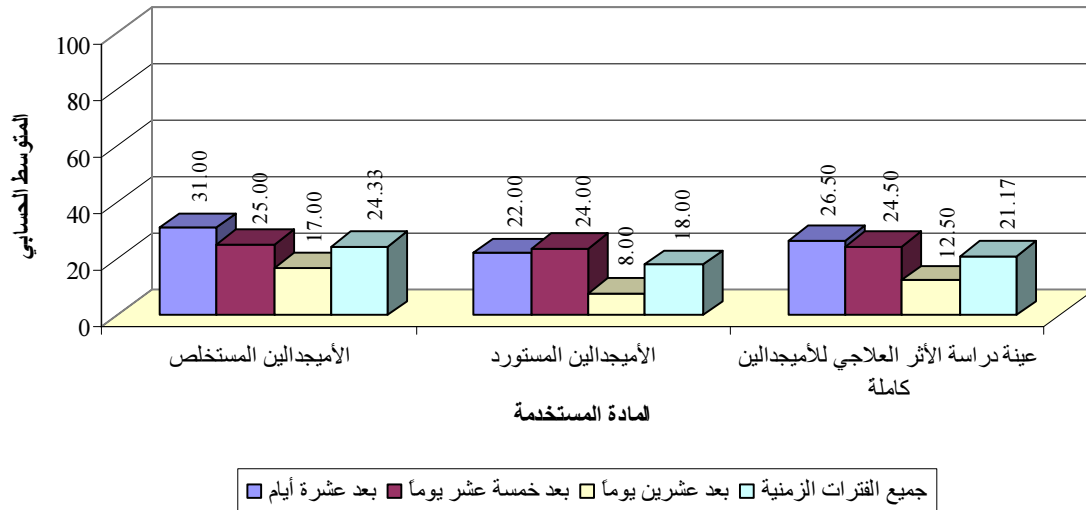
- إحصاءات وصفية :

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى / الحد الأعلى
معدل إيجابية البروتين Bcl2	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	5	31.00	2.24	1.00	30 / 35
		بعد خمسة عشر يوماً	5	25.00	3.54	1.58	20 / 30
		بعد عشرين يوماً	5	17.00	15.65	7.00	0 / 30
		في جميع الفترات	15	24.33	10.50	2.71	0 / 35
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	5	22.00	4.47	2.00	15 / 25
		بعد خمسة عشر يوماً	5	24.00	4.18	1.87	20 / 30
		بعد عشرين يوماً	5	8.00	10.95	4.90	0 / 20
		في جميع الفترات	15	18.00	9.96	2.57	0 / 30
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	10	26.50	5.80	1.83	15 / 35
		بعد خمسة عشر يوماً	10	24.50	3.69	1.17	20 / 30
		بعد عشرين يوماً	10	12.50	13.59	4.30	0 / 30
		في جميع الفترات	30	21.17	10.56	1.93	0 / 35
معدل إيجابية البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	5	31.00	4.18	1.87	25 / 35
		بعد خمسة عشر يوماً	5	22.00	2.74	1.22	20 / 25
		بعد عشرين يوماً	5	14.00	12.94	5.79	0 / 25
		في جميع الفترات	15	22.33	10.33	2.67	0 / 35
	الأميجدالين	بعد عشرة أيام	5	22.00	2.74	1.22	20 / 25

العينة المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين								
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	عدد حيوانات الهامستر	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
	المستورد	بعد خمسة عشر يوماً	5	17.00	2.74	1.22	15	20
		بعد عشرين يوماً	5	0.00	0.00	0.00	0	0
		في جميع الفترات	15	13.00	9.96	2.57	0	25
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	10	26.50	5.80	1.83	20	35
		بعد خمسة عشر يوماً	10	19.50	3.69	1.17	15	25
		بعد عشرين يوماً	10	7.00	11.35	3.59	0	25
		في جميع الفترات	30	17.67	11.04	2.02	0	35
	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	5	48.00	7.58	3.39	40	60
		بعد خمسة عشر يوماً	5	52.00	4.47	2.00	50	60
		بعد عشرين يوماً	5	54.00	5.48	2.45	50	60
		في جميع الفترات	15	51.33	6.11	1.58	40	60
معدل إيجابية البروتين beta-Catanin	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	5	57.00	4.47	2.00	50	60
		بعد خمسة عشر يوماً	5	64.00	4.18	1.87	60	70
		بعد عشرين يوماً	5	66.00	4.18	1.87	60	70
		في جميع الفترات	15	62.33	5.63	1.45	50	70
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	10	52.50	7.55	2.39	40	60
		بعد خمسة عشر يوماً	10	58.00	7.53	2.38	50	70
		بعد عشرين يوماً	10	60.00	7.82	2.47	50	70
		في جميع الفترات	30	56.83	8.04	1.47	40	70

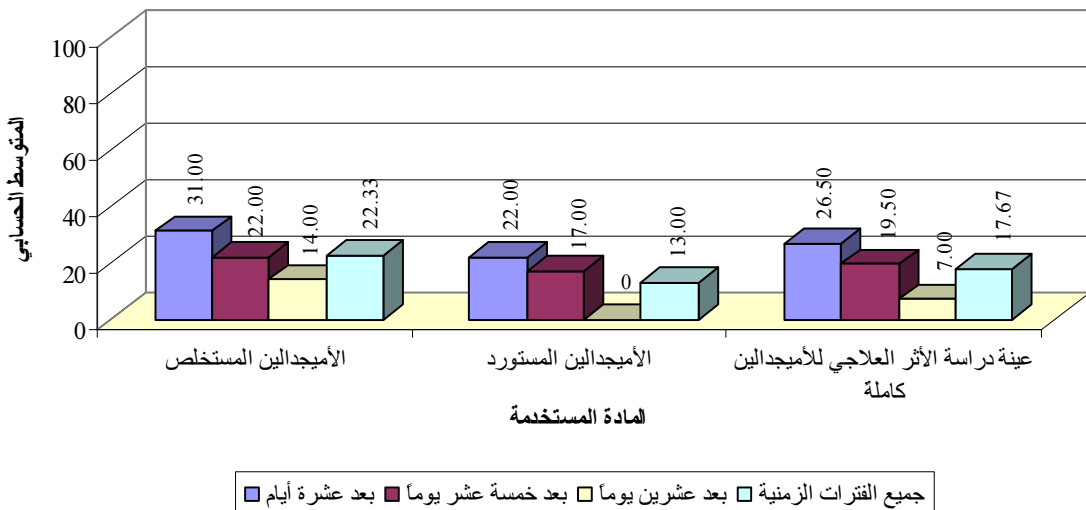
الجدول 38 يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catinin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 في عينة دراسة الأثر العلاجي
للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

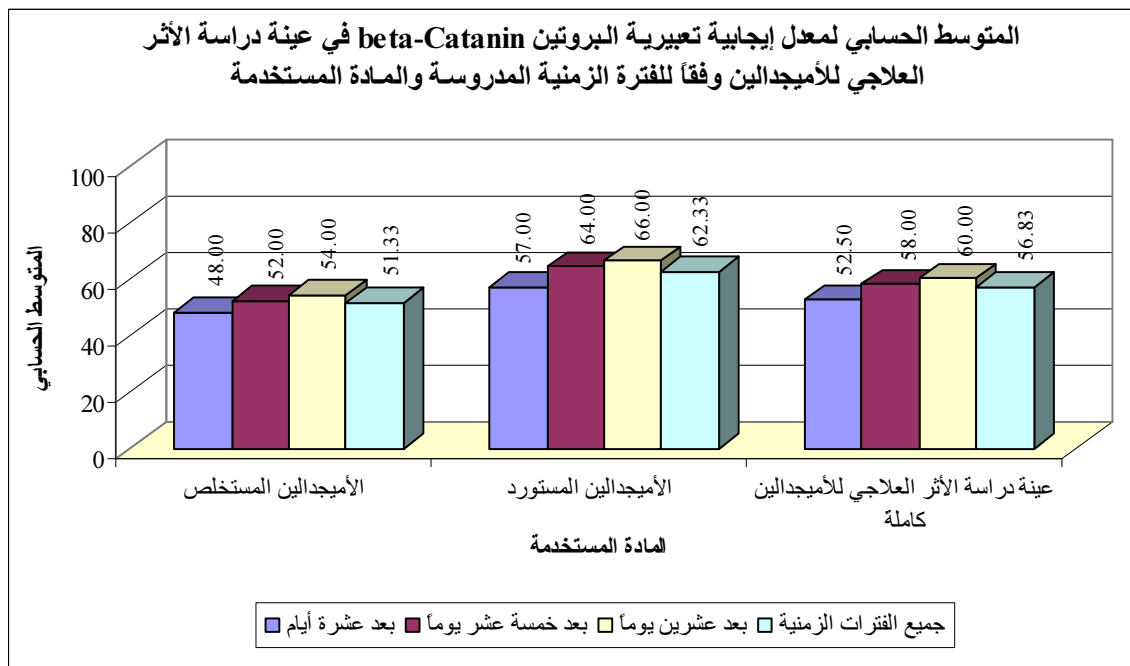


مخطط رقم 18 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين BCL2 في عينة دراسة الأثر العلاجي
للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين P53 في عينة دراسة الأثر العلاجي
للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 19 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية إيجابية تعبيرية البروتين P53 في عينة دراسة الأثر العلاجي
للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة



مخطط رقم 20 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين beta-catenin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

➤ دراسة دلالة الفروق بين القيمة المعيارية (صفر) وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من

البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة

الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة:

تم إجراء اختبار T ستيودنت للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين القيمة المعيارية (الصفر)

وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2 والبروتين P53

والبروتين beta-Catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كما يلي:

- نتائج اختبار T ستيودنت للعينة الوحيدة:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة t المحسوبة	درجات الحرية	الفرق بين القيمة المعيارية والمتوسط الحسابي	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل إيجابية البروتين Bcl2	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	31.000	4	31.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	15.811	4	25.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	2.429	4	17.00	0.072	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	8.976	14	24.33	0.000	توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	11.000	4	22.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	12.829	4	24.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	1.633	4	8.00	0.178	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	6.996	14	18.00	0.000	توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	14.455	9	26.50	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	21.000	9	24.50	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	2.908	9	12.50	0.017	توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	10.978	29	21.17	0.000	توجد فروق دالة
معدل إيجابية البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	16.570	4	31.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	17.963	4	22.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	2.419	4	14.00	0.073	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	8.375	14	22.33	0.000	توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	17.963	4	22.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	13.880	4	17.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	-	-	0	-	لا توجد فروق دالة

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
البروتين المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة t المحسوبة	درجات الحرية	الفرق بين القيمة المعيارية والمتوسط الحسابي	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	في جميع الفترات	5.053	14	13.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرة أيام	14.455	9	26.50	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	16.714	9	19.50	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	1.950	9	7.00	0.083	لا توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	8.762	29	17.67	0.000	توجد فروق دالة
معدل إيجابية البروتين beta-Catanin	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	14.154	4	48.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	26.000	4	52.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	22.045	4	54.00	0.000	توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	32.518	14	51.33	0.000	توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	28.500	4	57.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	34.209	4	64.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	35.278	4	66.00	0.000	توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	42.901	14	62.33	0.000	توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	22.001	9	52.50	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	24.365	9	58.00	0.000	توجد فروق دالة
		بعد عشرين يوماً	24.271	9	60.00	0.000	توجد فروق دالة
		في جميع الفترات	38.722	29	56.83	0.000	توجد فروق دالة

الجدول 39 يبين نتائج اختبار T ستودنت للعينة الوحيدة لدراسة دلالة الفروق بين القيمة المعيارية (الصفر) وقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين BCL2 والبروتين P53 والبروتين beta-catanin) على حدة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 بالنسبة لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في كل من مجموعة الأميجدالين المستخلص ومجموعة الأميجدالين المستورد على حدة، وبالنسبة لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين القيمة المعيارية (الصفر) ومتوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في كل من مجموعة الأميجدالين المستخلص ومجموعة الأميجدالين المستورد على حدة، وكذلك لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين القيمة المعيارية (الصفر) ومتوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً، وبالتالي فإن التعبيرية كانت سلبية إحصائياً في كل من المجموعات الفرعية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

ولم يتم حساب قيمة t ستيودنت للعينة الوحيدة بالنسبة للبروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد لأن معدل تعبيرية البروتين P53 كان يساوي الصفر بالنسبة لجميع حيوانات الهامستر في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد، وبالتالي نقرر أنه لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين القيمة المعيارية (صفر) وقيم معدل تعبيرية البروتين P53

في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد، وبالتالي نقرر أن تعبيرية البروتين P53 كانت سلبية إحصائياً في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لباقي المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والمادة المستخدمة والبروتين المدروس فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين القيمة المعيارية (الصفر) ومتوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين المعني في كل من المجموعات الفرعية المعنية في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وبما أن الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات الحسابية والقيمة المعيارية كانت موجبة نستنتج أن قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين المدروس كانت أكبر من الصفر، وبالتالي فإن التعبيرية كانت إيجابية إحصائياً في كل من المجموعات الفرعية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

◀ دراسة تأثير الفترة الزمنية المدروسة في قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات

الثلاثة المدروسة وفقاً للمادة المستخدمة:

تم إجراء اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2 والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin) على حدة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة

عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للمادة المستخدمة كما يلي:

- نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA :

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين				
المتغير المدروس	المادة المستخدمة	قيمة F المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل إيجابية البروتين Bcl2	الأميجدالين المستخلص	2.819	0.099	لا توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	7.238	0.009	<u>توجد فروق دالة</u>
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	7.416	0.003	<u>توجد فروق دالة</u>
معدل إيجابية البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	5.636	0.019	<u>توجد فروق دالة</u>
	الأميجدالين المستورد	133.000	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	16.623	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>
معدل إيجابية البروتين beta- Catanin	الأميجدالين المستخلص	1.302	0.308	لا توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	6.091	0.015	<u>توجد فروق دالة</u>
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	2.590	0.094	لا توجد فروق دالة

الجدول 40 يبين نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة الفروق في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة على حدة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المدروسة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05 بالنسبة لمعدل إيجابية البروتين Bcl2 في مجموعة الأميجدالين المستخلص، وبالنسبة لمعدل إيجابية البروتين beta- Catanin في مجموعة الأميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم معدل

إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في مجموعة الأُميجدالين المستخلص، وكذلك لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين beta-Catanin بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في مجموعة الأُميجدالين المستخلص وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين كاملةً.

أما بالنسبة لباقي المجموعات الفرعية للمادة المستخدمة والبروتين المدروس فيُلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين المدروس بين اثنتين على الأقل من مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً)، ولمعرفة أي المجموعات تختلف عن الأخريات جوهرياً في قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين المدروس تم إجراء المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين المدروس بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة (بعد عشرة أيام، بعد خمسة عشر يوماً، بعد عشرين يوماً) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأُميجدالين كما يلي:

- نتائج المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين							
المتغير المدروس	المادة المستخدمة	الفترة الزمنية (I)	الفترة الزمنية المدروسة (J)	الفرق بين المتوسطين (I-J)	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل إيجابية البروتين Bcl2	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	-2.00	4.58	1.000	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	14.00	4.58	0.030	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	16.00	4.58	0.013	توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	2.00	3.93	1.000	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	14.00	3.93	0.004	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	12.00	3.93	0.015	توجد فروق دالة
معدل إيجابية البروتين P53	الأميجدالين المستخلص	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	9.00	5.07	0.303	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	17.00	5.07	0.017	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	8.00	5.07	0.421	لا توجد فروق دالة
	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	5.00	1.41	0.012	توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	22.00	1.41	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	17.00	1.41	0.000	توجد فروق دالة
	عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملة	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	7.00	3.43	0.153	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	19.50	3.43	0.000	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	12.50	3.43	0.003	توجد فروق دالة
معدل إيجابية البروتين beta-Catanin	الأميجدالين المستورد	بعد عشرة أيام	بعد خمسة عشر يوماً	-7.00	2.71	0.072	لا توجد فروق دالة
			بعد عشرين يوماً	-9.00	2.71	0.018	توجد فروق دالة
		بعد خمسة عشر يوماً	بعد عشرين يوماً	-2.00	2.71	1.000	لا توجد فروق دالة

الجدول 41 يبين نتائج المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة بين مجموعات الفترة الزمنية المدروسة في بعض مجموعات المادة المستخدمة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 عند المقارنة في قيم كل من معدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 ومعدل تعبيرية البروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً وكل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة في كل من مجموعة الأميگدالين المستورد وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميگدالين كاملةً، وعند المقارنة في قيم معدل تعبيرية البروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميگدالين المستخلص، وعند المقارنة في قيم معدل تعبيرية البروتين P53 بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً في مجموعة الأميگدالين المستورد، وعند المقارنة في قيم معدل تعبيرية البروتين beta-Catanin بين مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميگدالين المستورد، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية ذات دلالة إحصائية في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتينات المذكورة بين مجموعات الفترة الزمنية المذكورة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميگدالين، وبدراسة الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات نستنتج أن قيم كل من معدل إيجابية تعبيرية البروتين Bcl2 ومعدل تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً كانت أصغر منها في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً على حدة في كل من مجموعة الأميگدالين

المستورد وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً، ونستنتج أن قيم معدل تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام كانت أكبر منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستخلص، ونستنتج أن قيم معدل تعبيرية البروتين P53 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام كانت أكبر منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد، ونستنتج أن قيم معدل تعبيرية البروتين beta-Catanin في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام كانت أصغر منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً في مجموعة الأميجدالين المستورد من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

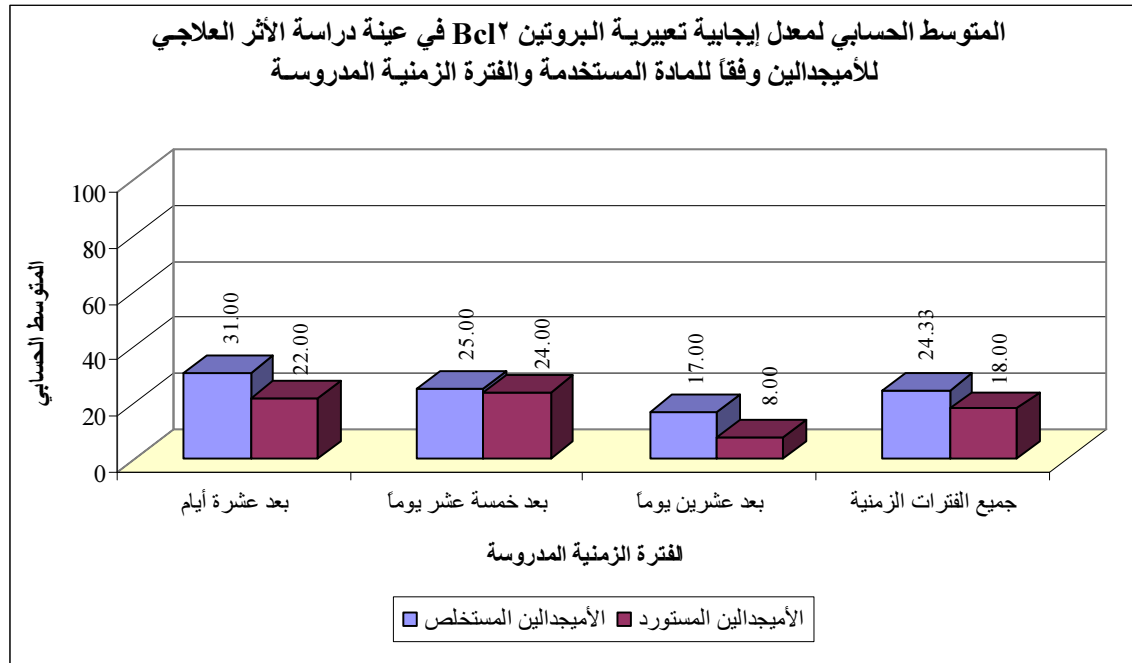
➤ دراسة تأثير المادة المستخدمة في قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للفترة الزمنية المدروسة:

تم إجراء اختبار T ستودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة (البروتين Bcl2 والبروتين P53 والبروتين beta-Catanin) على حدة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة كما يلي:

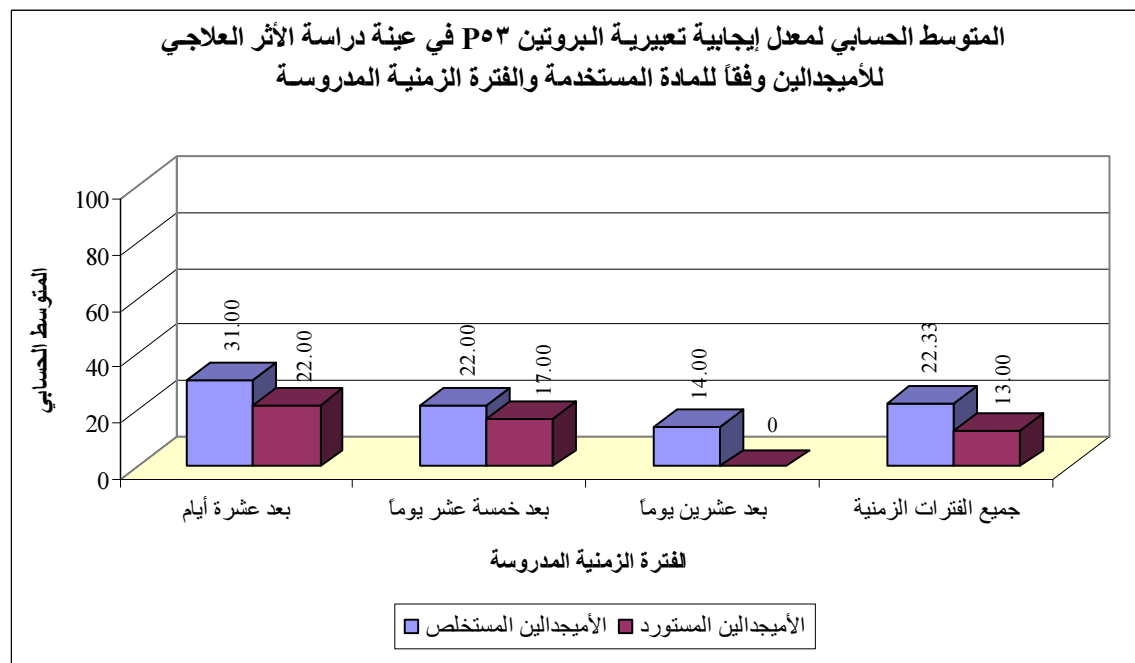
- إحصاءات وصفية:

العينة الفرعية المدروسة = عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين								
المتغير المدروس	الفترة الزمنية المدروسة	المادة المستخدمة	عدد حيوانات الهامستر	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
معدل إيجابية البروتين Bcl2	بعد عشرة أيام	الأميجدالين المستخلص	5	31.00	2.24	1.00	30	35
		الأميجدالين المستورد	5	22.00	4.47	2.00	15	25
	بعد خمسة عشر يوماً	الأميجدالين المستخلص	5	25.00	3.54	1.58	20	30
		الأميجدالين المستورد	5	24.00	4.18	1.87	20	30
	بعد عشرين يوماً	الأميجدالين المستخلص	5	17.00	15.65	7.00	0	30
		الأميجدالين المستورد	5	8.00	10.95	4.90	0	20
	جميع الفترات الزمنية	الأميجدالين المستخلص	15	24.33	10.50	2.71	0	35
		الأميجدالين المستورد	15	18.00	9.96	2.57	0	30
معدل إيجابية البروتين P53	بعد عشرة أيام	الأميجدالين المستخلص	5	31.00	4.18	1.87	25	35
		الأميجدالين المستورد	5	22.00	2.74	1.22	20	25
	بعد خمسة عشر يوماً	الأميجدالين المستخلص	5	22.00	2.74	1.22	20	25
		الأميجدالين المستورد	5	17.00	2.74	1.22	15	20
	بعد عشرين يوماً	الأميجدالين المستخلص	5	14.00	12.94	5.79	0	25
		الأميجدالين المستورد	5	0.00	0.00	0.00	0	0
	جميع الفترات الزمنية	الأميجدالين المستخلص	15	22.33	10.33	2.67	0	35
		الأميجدالين المستورد	15	13.00	9.96	2.57	0	25
معدل إيجابية البروتين beta-Catanin	بعد عشرة أيام	الأميجدالين المستخلص	5	48.00	7.58	3.39	40	60
		الأميجدالين المستورد	5	57.00	4.47	2.00	50	60
	بعد خمسة عشر يوماً	الأميجدالين المستخلص	5	52.00	4.47	2.00	50	60
		الأميجدالين المستورد	5	64.00	4.18	1.87	60	70
	بعد عشرين يوماً	الأميجدالين المستخلص	5	54.00	5.48	2.45	50	60
		الأميجدالين المستورد	5	66.00	4.18	1.87	60	70
	جميع الفترات الزمنية	الأميجدالين المستخلص	15	51.33	6.11	1.58	40	60
		الأميجدالين المستورد	15	62.33	5.63	1.45	50	70

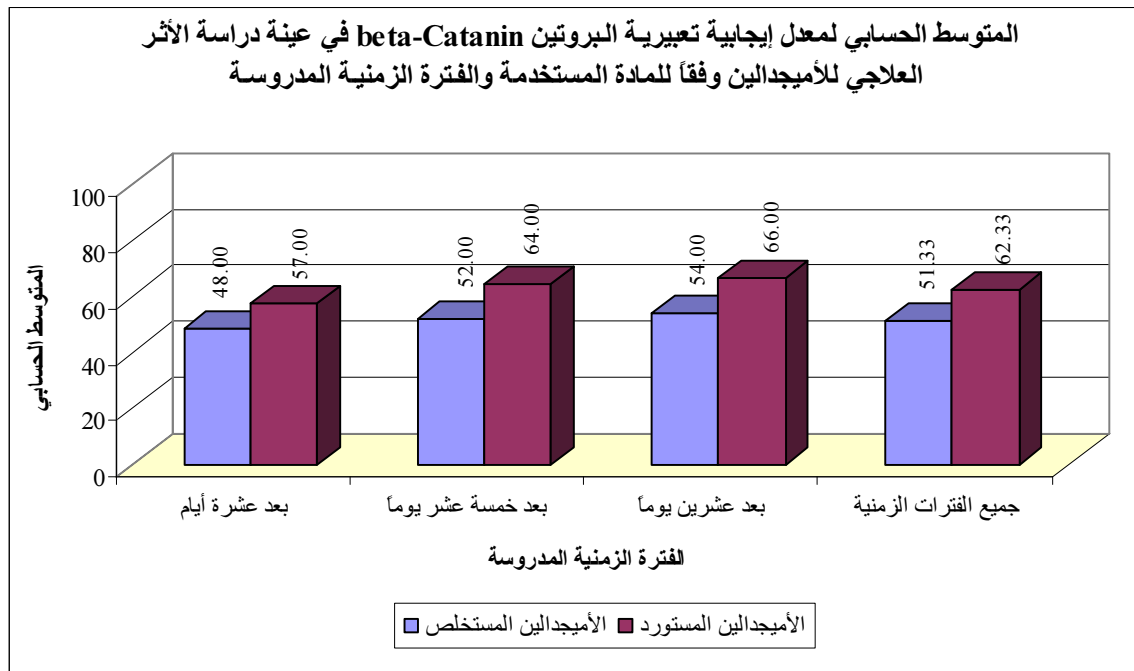
الجدول 42 يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري لقيم معدل إيجابية تعبيرية كل من البروتينات الثلاثة المدروسة للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة



مخطط رقم 21 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين BCL2 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة



مخطط رقم 22 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين P53 في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة



مخطط رقم 23 يمثل المتوسط الحسابي لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين beta-catanin في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وفقاً للمادة المستخدمة والفترة الزمنية المدروسة

-
-
-
-
-
-
-
-
-

- نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة:

المتغير المدروس	الفترة الزمنية المدروسة	قيمة t المحسوبة	درجات الحرية	الفرق بين المتوسطين	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق الثنائية
معدل إيجابية البروتين Bcl2	بعد عشرة أيام	4.025	8	9.00	2.24	0.004	توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	0.408	8	1.00	2.45	0.694	لا توجد فروق دالة
	بعد عشرين يوماً	1.053	8	9.00	8.54	0.323	لا توجد فروق دالة
	جميع الفترات الزمنية	1.695	28	6.33	3.74	0.101	لا توجد فروق دالة
معدل إيجابية البروتين P53	بعد عشرة أيام	4.025	8	9.00	2.24	0.004	توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	2.887	8	5.00	1.73	0.020	توجد فروق دالة
	بعد عشرين يوماً	2.419	8	14.00	5.79	0.042	توجد فروق دالة
	جميع الفترات الزمنية	2.519	28	9.33	3.71	0.018	توجد فروق دالة
معدل إيجابية البروتين beta-Catanin	بعد عشرة أيام	-2.286	8	-9.00	3.94	0.052	لا توجد فروق دالة
	بعد خمسة عشر يوماً	-4.382	8	-12.00	2.74	0.002	توجد فروق دالة
	بعد عشرين يوماً	-3.893	8	-12.00	3.08	0.005	توجد فروق دالة
	جميع الفترات الزمنية	-5.127	28	-11.00	2.15	0.000	توجد فروق دالة

الجدول 43 يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة الفروق في متوسط قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتينات الثلاثة المدروسة بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، الأميجدالين المستورد) في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين وذلك وفقاً للفترة الزمنية المدروسة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة 0.05 بالنسبة لمعدل إيجابية تعبيرية البروتين Bc12 في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً وفي جميع الفترات الزمنية المدروسة عموماً، وبالنسبة لمعدل إيجابية البروتين BCL-2 في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط معدل إيجابية تعبيرية البروتين Bc12 بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرين يوماً على حدة وفي جميع الفترات الزمنية المدروسة عموماً، وكذلك لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط معدل إيجابية تعبيرية البروتين beta-Catanin بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في مجموعة حيوانات الهامستر المضحي بها بعد عشرة أيام من عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين.

أما بالنسبة لكل من المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والبروتين المدروس فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط معدل إيجابية تعبيرية البروتين المدروس بين مجموعتي المادة المستخدمة المدروستين (الأميجدالين المستخلص، مجموعة الأميجدالين المستورد) في كل من المجموعات الفرعية للفترة الزمنية المدروسة والبروتين المدروس المعنية في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين، وبما أن الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات كانت موجبة بالنسبة لكل

من معدل إيجابية تعبيرية البروتين Bc12 ومعدل إيجابية تعبيرية البروتين P53، نستنتج أن قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين Bc12 في مجموعة الأميغدالين المستخلص كانت أكبر منها في مجموعة الأميغدالين المستورد في مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرة أيام، ونستنتج أن قيم معدل إيجابية تعبيرية البروتين P53 في مجموعة الأميغدالين المستخلص كانت أكبر منها في مجموعة الأميغدالين المستورد مهما كانت الفترة الزمنية المدروسة، وبما أن الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات كانت سالبة بالنسبة لمعدل إيجابية البروتين beta-Catanin نستنتج أن قيم معدل إيجابية البروتين beta-Catanin في مجموعة الأميغدالين المستخلص كانت أصغر منها في مجموعة الأميغدالين المستورد، وذلك في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد خمسة عشر يوماً ومجموعة حيوانات الهامستر المضى بها بعد عشرين يوماً على حدة وفي عينة دراسة الأثر العلاجي للأميغدالين كاملةً (أي في جميع الفترات الزمنية عموماً).

الباب الخامس: المناقشة

Discussion

كانت الآفات التنشؤية ومازالت محور اهتمام الباحثين في مختبراتهم، والأطباء الممارسين في عياداتهم، والمرضى المصابين. إذ أنها مازالت تشكل لغزاً غامضاً عصيَّ الحل من حيث عدم التثبت من العوامل المسببة إلا فيما يخص بعضها، وعدم وضوح الآليات الإمراضية التي تتحكم بنشوتها وتطورها، وعدم نجاعة الطرق العلاجية في التخلص منها وشفائها، ولئن كان القلق هو نصيب الآفات السليمة، فكيف سيكون الحال عندما نتناول بالبحث الآفات الخبيثة السرطانية، التي ينتهي أغلبها وللأسف بالموت، فلذا ليس عبثاً أن تشكل الآفات الخبيثة هاجساً مقلقاً سواء للباحثين والأطباء أو للمرضى وعوائلهم. لذا فمنذ بدايات اكتشاف السرطان تراكت كمية هائلة من الدراسات، التي اهتمت ودرست وتدرس كل الجوانب المتعلقة بهذه الآفات بدءاً من الأسباب المؤهبة إلى طرق المعالجة الناجعة مروراً بشرح وتفسير الآليات الإمراضية، هادفة إلى كشف وسبر أغوار هذه الآفات بغية ابتداء طرق علاج سببية فعالة عوضاً عن طرق علاج عرضية مؤقتة، هذا من جهة ومن جهة أخرى تركز الأبحاث والدراسات الحالية على اكتشاف طرق الوقاية من الإصابة. تناولت الدراسات العديد من الطرق التقليدية منها والحديثة، وبات اليوم استخدام التقنيات الحديثة من الأمور الأساسية للتحري الدقيق عن العامل الإمراضي الأساسي وتحديد العلاج النوعي الذي يؤدي إلى العودة بالخلية إلى الحالة الطبيعية. من هنا انطلقت الأبحاث اليوم نحو آلية تأثير العلاجات المتبعة وإمكانية التأثير على الخلايا السرطانية من خلال التوجه نحو مستقبلات خاصة موجودة على سطح الخلايا السرطانية الهدف، أو تستهدف سبل نقل الإشارة من سطح الخلية لداخلها أو تستهدف الدنا مباشرة، يتم التركيز حالياً على البيئة المحيطة بالورم

(Microenviroment) وإمكانية العلاج من خلال التأثير على هذه البيئة وحرمان الخلايا

السرطانية من التغذية ودفعها بالتالي إلى الموت.

تعد دراسة طرق العلاج البديلة والمكملة والأبحاث في هذا المجال من المجالات التي يتجه إليها العلم اليوم، ويعود ذلك إلى الانتشار الكبير لهذه الطرق في الآونة الأخيرة واستخدامها أو ترشيحها طريقة للعلاج من قبل بعض الممارسين السريريين التقليديين، وهذا ما دفع بالباحثين للخوض في المواد المستخدمة، وأجريت وتجري أغلب الدراسات الحالية على نسائل خلوية سرطانية بشرية وأثر تلك المواد في العلاج.

انطلقنا من هنا في هذا البحث لدراسة أكثر هذه المواد جدلاً في الأدب الطبي وهي الأميجدالين، التي شكل استخدامها كعلاج الكثير من اللغظ في السبعينيات من القرن الماضي، ولكن عادت الدراسات اليوم لتؤكد الأثر العلاجي وذلك على نسائل خلوية بشرية سرطانية متنوعة.

اخترنا دراسة فعالية هذه المادة وأثرها العلاجي والوقائي في حالات السرطان البشري شائك الخلايا الفموي، باعتباره أكثر سرطانات الحفرة الفموية شيوعاً. كما تم اختيار حيوانات الهامستر كحيوانات تجربة، وذلك باستحداث السرطان البشري شائك الخلايا في الجيب الخدي لديها ، لسهولة التعامل مع الهامستر من جهة ومن جهة أخرى لإمكانية استحداث السرطان البشري شائك الخلايا الفموي في الجيب الخدي في الحفرة الفموية، التي تعتبر مشابهة للظاهرة لدى البشر من ناحية أخرى .

درسنا التأثير المحتمل لهذه المادة على سبيل الموت الخلوي المبرمج في الخلايا السرطانية متمثلاً بدراسة مورثتي P53 و Bcl-2 ، كما درسنا الأثر على الروابط بين الخلوية من خلال دراسة سبيل الـ β -catenin وذلك باعتبار أن التأثير العلاجي الفعال لأي علاج يكمن في القضاء على الفعل الانقسامى للخلايا الورمية وذلك بدفعها للموت، والقضاء على الروابط بين الخلوية لمنعها من الاستعمار.

رصدنا هذه الدراسة بتحري أثر هذه المادة على أهم النسيج الحيوية وهي القلب والرئتين، لدراسة التأثير السمي المزعوم لهذه المادة كونها تحرر مادة السيانييد.

مناقشة نتائج الفعالية العلاجية للأميجدالين:

قمنا في دراسة هذا الهدف باستخدام الأميجدالين المستورد ، والأميجدالين الذي استخلصناه ودراسة أثر كل منهما في العلاج والمقارنة بين فعالية كل منهما.

جمعنا، للقيام بالدراسة الإحصائية، مجموعة الأثر العلاجي للأميجدالين المستورد مع مجموعة الأثر العلاجي للأميجدالين المستخلص في مجموعة إحصائية واحدة، وهي مجموعة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين في الإصابة بالسرطان البشري شائك الخلايا الفموي.

تبين من خلال نتائج هذا البحث فعالية الأميجدالين سواء المستورد أو المستخلص العلاجية للسرطان البشري شائك الخلايا المستحدث في الجيب الخدي للهامستر. رجحت الدراسة الإحصائية فعالية الأميجدالين المستورد على الأميجدالين المستخلص حيث كانت تعبيرية البروتين الـ P53 أعلى في ظاهرة الجيب الخدي للهامستر المعالج بالأميجدالين المستخلص منها في

المستورد. كذلك الأمر بالنسبة للـ BCL-2 حيث كانت تعبيريته مرتفعة أكثر في ظهارة الجيب الخدي للهامستر المعالج بالأميجدالين المستخلص منها في المستورد. كانت تعبيرية الـ-Beta catanin مرتفعة أكثر في ظهارة الجيب الخدي للهامستر المعالج بالأميجدالين المستورد منها في المستخلص .

توافقت نتائج دراستنا مع الكثير من الأبحاث، ومنها دراسة Bromley وزملائه، التي أكدت شفاء المرضى من إصابات سرطانية مختلفة عند جرعة تطبيق بلغت 3 مغ من العقار بالتوافق مع الفيتامين C. (Bromley et al., 2005).

توافقت نتيجة هذه الدراسة كذلك مع نتيجة Leor وزملاؤه على ورم الخلايا الكبدية، بلغت جرعة التطبيق 9 غ بالطريق الهضمي لمدة يومين. كانت الأعراض الجانبية غيبوبة وانخفاض في الضغط وحُمّاض. (Leor et al., 1986).

اختلفت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Vogel وزملاؤه التي أُجريت على إناث مصابات بسرطان الثدي. لم تُوثق تلك الدراسة جرعة الأميجدالين المستخدمة. حيث توفيت المصابات بالسرطان. إن دراسة Vogal لم تذكر أو تحدد أي بيانات تفصيلية يمكننا من خلالها تبرير الاختلاف. (Vogel et al., 1981).

اختلفت كذلك مع نتيجة Sadoff وزملاؤه على ورم الخلايا الدبقية النجمية Astrocytoma كانت الجرعة المطبقة 10 غ من الأميجدالين مدة يوم واحد وانتهت بموت المريض. لا نستطيع الجزم بسبب الاختلاف مع هذه الدراسة وذلك يعود لمجموعة من النقاط، أولها أن الدراسة قديمة ولم

توثق أو تذكر تصنيف الحالات الورمية المشمولة في الدراسة. كما أنها لم تبرز أي استبيان للمرضى إن كانوا ممن يتناولون المكملات الغذائية أو علاجات أخرى مكملة خلال فترة البحث. (Sadoff et al., 1978).

كانت درجة خطورة الآفة في كل من مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد خمسة عشر يوماً وبعد عشرين يوماً أقل منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد عشرة أيام في عينة دراسة الأثر العلاجي للأميجدالين كاملةً، ونستنتج أن درجة خطورة الآفة في مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد عشرين يوماً كانت أقل منها في مجموعة حيوانات الهامستر المضحى بها بعد عشرة أيام. حيث تراجعت الكتل الورمية من الجيب الخدي للهامستر وهذا ما أكدته دراسة المقاطع الملونة بالملونات التقليدية الهيماتوكسيلين والايوزين وهذا ما دعمته كذلك الدراسة بالملونات المناعية.

مناقشة نتائج الملون المناعي الـ BCL-2 في الأثر العلاجي للأميجدالين:

ينتج عن مقاومة الخلايا الموت المبرمج إلى تعزيز عملية التنشوء الورمي. ومن السبل التي تتحكم بالموت الخلوي المبرمج، سبيل الـ BCL-2 حيث يعزز ارتفاع تركيز هذا البروتين هروب الخلايا من الموت المبرمج، فيما يدفعها بالمقابل الـ BAX نحو الموت المبرمج بتفعيل شلال الـ Caspase 3 وتفعيل الموت الخلوي المبرمج بالسبيل الداخلي.

تشير دراستنا إلى أن الأميجدالين يعمل على خفض تركيز الـ BCL-2 في الخلايا الظهارية أثناء العلاج وتراجع تعبيره مع تقدم الفترة الزمنية لتطبيق الأميجدالين (10 أيام و15 يوماً و20 يوماً)

سواء للأميجدالين المستورد أو المستخلص. . فيما رجحت الدراسة الإحصائية فعالية الأميجدالين المستورد بانقضاء عشرة أيام وخمسة عشرة يوماً فيما لم يكن هناك فروقاً إحصائية بانقضاء اليوم العشرين.

من المعروف أن خفض تركيز بروتين الـ BCL-2 سيعمل على خفض مقاومة الخلايا السرطانية للموت المبرمج ، مما يجهض تعزيز عملية التنشوء الورمي، على اعتبار أن سبيل الـ BCL-2 من السبل التي تتحكم بالموت الخلوي المبرمج. إذ أن ارتفاع تركيز هذا البروتين يعزز هروب الخلايا من الموت المبرمج، في يدفعها الـ BAX بالمقابل نحو الموت المبرمج بتفعيل شلال الـ Caspase 3 المحرّض للموت الخلوي المبرمج بالسبيل الداخلي.

هذا ما يتوافق مع دراسة Qian الذي أكد على انخفاض تركيز الـ BCL-2 وارتفاع تركيز الـ BAX وذلك في دراسته على نسائل خلايا بشرية لسرطان الثدي. (Qian et al., 2015).

كما توافقت هذه النتيجة كذلك مع نتيجة Chang التي أكدت كذلك على انخفاض تعبيرية الـ BCL-2 وارتفاع تعبيرية الـ BAX وذلك في نسائل خلوية بشرية لسرطان المoothة. (Chang et al., 2006). إضافة إلى دراسة Chen التي أكدت كذلك على فعالية الأميجدالين في القضاء على سرطان عنق الرحم في نسائل خلوية بشرية بسرطان عنق الرحم من خلال خفض تعبيرية الـ BCL-2. (Chen et al., 2013).

فيما بينت دراسة Zhou أن فعالية الأميجدالين في القضاء على سرطان الخلايا الكبدية كانت ضعيفة، لكنها كانت جيدة عندما كان العلاج مدعماً بأنزيم البيتاغلوكوزيداز. (Zhou et al., 2012).

مناقشة نتائج الملون المناعي الـ β -catenin:

تنظم عائلة الانتغرين الربط بين الخلوي والربط الخلوي المطرقي وتساهم هذه العملية في التمايز الخلوي والاستعمار والتشكل الوعائي.

أشارت نتائج دراستنا إلى ارتفاع تعبيرية الـ β -catenin خلال الفترات الزمنية للعلاج بالأميجدالين (عشرة أيام وخمسة عشرة يوم وعشرون يوماً) سواءً للأميجدالين المستورد أو المستخلص.

أكدت نتائج دراسة Makarevik تأثير الأميجدالين المضاد للروابط أو عوامل اللصق بين الخلايا الورمية خاصة الانتغرين بيتا 1 والانتغرين بيتا 4، معاكساً بالتالي هجرة الخلايا الورمية واستعمارها. وذلك في دراسته على نسائل خلايا برية لسرطان الموثة. (Makarevic et al., 2014b).

كما أكدت دراسة Qain و Lee النتيجة السابقة ذاتها وذلك من خلال إثبات فعالية الأميجدالين في كبح الانتغرين الفا 5 مانعاً بالتالي الترابط بين الخلايا الورمية. (QianLee and Moon, 2016), (et al., 2015)

جاءت النتائج المذكورة آنفاً بالتوافق مع بحثنا، الذي خلص إلى أن الأميجدالين يؤثر في فرد آخر من عائلة الانتغرين وهو β -catenin حيث تزداد تعبيريته الغشائية في الخلايا السليمة وتخفض في الخلايا الورمية وهذا ما أكدته نتائج هذا البحث وما يتوافق مع نتائج الدراستين السابقتين. حيث ارتفعت التعبيرية الغشائية عند الاتجاه نحو السلامة وكانت منخفضة في حالات سوء التصنع.

مناقشة نتائج الملون المناعي الـ P53:

إن تراجع تعبيرية الـ P53 الطافر مع تقدم الفترة الزمنية لتطبيق الأميجدالين سواء للأميجدالين المستورد أو المستخلص. فيما رجحت الدراسة الإحصائية فعالية الأميجدالين المستورد بانقضاء عشرة أيام وخمسة عشرة يوماً فيما لم يكن هناك فروقاً إحصائية بانقضاء اليوم العشرين.

هذا ما توافق مع دراسة Ha وزملاءه من حيث انخفاض تعبيرية الـ P53 عند العلاج بالأميجدالين. جاء ذلك في سياق دراستهم على نساءل خلوية بشرية لسرطان الموثة. استخدم العقار Anthocyanin المستخلص من بذور الصويا السوداء والذي يشابه مركب الأميجدالين من حيث تحرير السيانييد. خلصت الدراسة إلى أن هذه المادة تؤدي إلى انخفاض تعبيرية الـ BCL-2 والـ P53 وترفع من تعبيرية الـ BAX في خلايا سرطان الموثة (Ha et al., 2015).

بينت هذه النتائج الأثر العلاجي للأميجدالين، المستورد و المستخلص. لم تسجل هذه الدراسة فروقاً في الأثر العلاجي للمادتين مهما كان الزمن حيث كانت الفعالية مشابهة بعد عشرين يوم من الحقن البرتواني. فيما لاحظنا وجود فروق بين المادتين ترجح فعالية الأميجدالين المستورد على

المستخلص من حيث أن تأثير هذا العقار منذ من اليوم العاشر فالخامس عشر، فيما تأخر ظهور الأثر العلاجي للعقار المستخلص إلى اليوم الخامس عشر.

نعلل هذه النتيجة بأن المادة الفعالة في الأميجدالين المستورد كانت أنقى منها في الأميجدالين المستخلص وذلك قد يرجع إلى جودة ونوعية بذور المشمش التي استخدمناها في الاستخلاص.

بالمحصلة لما سبق واعتماداً على نتائج التلوين المناعي النسيجي الكيميائي الذي تلخص بخفض تركيز الـ BCL-2 في الخلايا الظهارية السرطانية وتراجع تعبيريته، وبترجع تعبيرية الـ P53 الطافر مع تقدم الفترة الزمنية لتطبيق الأميجدالين، وارتفاع تعبيرية الـ β -catenin نستخلص أن العلاج بالأميجدالين المستورد منه أو المستخلص قد أدى، ودون أدنى شك، إلى تراجع التنشوء السرطاني وإلى شفاء الإصابة.

مناقشة الأثر الوقائي للأميجدالين عبر التطبيق الفموي:

يُلاحظ أن نسبة حيوانات الهامستر الذين كانت لديهم البشرة غير السليمة كانت أكبر من 50% في عينة دراسة الأثر الوقائي للأميجدالين المستورد. وبلغت درجة الخطورة 39% من حيث إظهار البشرة سوء التصنع البسيط والمتوسط. وهذا ما كنا قد أشرنا إليه عند ذكر نتائج التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والايوزين وأكدته نتائج التلوينات المناعية.

لم يتسبب إعطاء الأميجدالين في هذا الدراسة، بالطريق الفموي مع حالات تسمم بالسيانيد، مما يتناقض مع الفرضيات التي تقول بوجود الأثر السمي للسيانيد الذي يرافق تطبيق الأميجدالين عند مرضى يتناولون العقار بالسبيل الفموي مقارنة مع السبيل الهضمي أو الدموي. خالفت هذه النتيجة

دراسة Newmark وزملاءه التي قالت بالسمية المترافقة مع إعطاء الأميجدالين بالسبيل الفموي وذلك على فئران التجربة وعلى أمعاء الإنسان. قد يعود هذا الاختلاف في النتيجة إلى أن الدراسة السابقة كانت تستخدم الأميجدالين بالمشاركة مع إنزيم بيتا غلوكوزيداز. تؤدي هذه المشاركة إلى ارتفاع سرعة تفاعل انشطار الأميجدالين وبالتالي تحرر كميات أكبر من منتجاته ومنها السيانييد مما يعزز احتمالات حدوث السمية. (Newmark et al., 1981).

مناقشة تعبيرية الملونات المناعية (BCL2- P53- β -catenin) في بشرة الجيب الخدي للهامستر في العينة الوقائية:

لم نجد دراسات سابقة مشابهة تحرت سبيل تأثير الأميجدالين في الوقاية من الإصابة بالسرطان شائك الخلايا أو غيره من السرطانات، لكي تتم مقارنة نتائج بحثنا بها.

كانت تعبيرية البروتين المضاد للموت الخلوي المبرمج BCL-2 سلبية بنسبة 53.3%، أي أن الأميجدالين من الممكن أن يؤثر على سبيل الموت الخلوي المبرمج في الخلايا البشرية المدروسة مثبطاً عملية هروب الخلية من الموت الخلوي المبرمج التي تحدث في سياق عملية نشوء السرطانات.

في حين أن تعبيرية البروتين P53 الطافر سلبية بنسبة 60%. تدل هذه النسبة على فعالية الأميجدالين في الحد من تراكم طفرات في الـ P53 للخلايا البشرية المدروسة وبالتالي هذا ما انعكس في تأخير ظهور السرطان شائك عن الفترة الزمنية اللازمة لظهور هذا السرطان مع تطبيق المادة المسرطنة (التي تقدر بثلاثة أشهر ونصف).

كانت تعبيرية البروتين الغشائي β -catenin إيجابية بدرجات متباينة في المقاطع النسيجية مهماً كانت الفترة الزمنية للتضحية. وهذا ما يشير إلى سلامة الروابط بين الخلوية وبقاء البشرة في الحالة الطبيعية من حيث وجود هذه الروابط.

بالمحصلة لما سبق واعتماداً على نتائج التلوين المناعي النسيجي الكيميائي الذي تلخص بتعبيرية البروتين المضاد للموت الخلوي المبرمج BCL-2 السلبية التي بلغت نسبة 53.3%، وبتعبيرية البروتين الطافر P53 التي كانت سلبية بنسبة 60%، وبتعبيرية البروتين الغشائي β -catenin التي كانت إيجابية، يتضح لنا الدور الوقائي الذي لعبه الأميجدالين ، الذي حصّن الخلايا البشرية من تأثير المواد المسرطنة، وأطال من الزمن اللازم لبدء عملية التسرطن.

مناقشة أثر الأميجدالين على القلب والرئتين:

خلصت نتائج بحثنا إلى أن استخدام الأميجدالين كمادة دوائية وقائية كانت أم علاجية، كان آمناً وذلك للشكلين سواء المستورد أو المستخلص، إذ أنه لم يؤثر على النسيج الحيوية الهامة (القلب والرئتين) وذلك بالحقن البريتواني.

لم تبد خلايا العضلة القلبية أية تبدلات مرضية، فقد حافظت الخلايا على سلامتها. فيما ظهر في النسيج الرئوي علائم التهاب رئة خلالي مترافق مع بؤر من النزف وتشكل الهيموزيدين وذلك بعد مرور خمسة أيام من تطبيق الأميجدالين. تراجعت أعراض الالتهاب سابق الذكر في عينات اليوم العاشر. تعد هذه النتيجة عرضية حيث تعد العقاقير الدوائية من أهم مسببات التهاب الرئة الخلالي الذي لا يتظاهر سريرياً ويتراجع تلقائياً بعد مرور فترة زمنية على بدء تناول الدواء.

لم نجد إحصائيا فروقا دالة إحصائياً في تكرارات الرئة السليمة والمصابة بين مجموعة الهامستر المضحي بها بعد خمسة أيام وبين المجموعة المضحي بها بعد عشرة أيام، وبالتالي لا يوجد تأثير لالتهاب الرئة الخلالي وفقاً للفترة الزمنية المدروسة.

لم نجد دراسات سابقة في الأدب الطبي تناولت دراسة تأثير الأميغدالين على النسيج الحيوية الهامة كالقلب والرئة أو غيرها.

ختاماً:

يعود التباين في الدراسات (القديم منها والحديث) المؤيد منها لفعالية الأميجدالين في علاج السرطانات وأخرى (دراسات قديمة) تنفي هذا الدور معللة السبب بالسمية المرافقة لتحرير السيانييد وخلافها، إلى سببين أساسيين، أولهما أن الدراسات النافية لدور العقار العلاجي ربما استخدمت متبلمرات أخرى للمادة تختلف تماماً عن الصيغة الفعالة النقية (Fenselau,1977)، وثانيهما أن طرق تحضير واستخلاص الأميجدالين القديمة قد تكون سيئة وملوثة ومن هنا تختلف فعالية المستخلص وقد تكون سامة (Hwang,2002; Hu,2002).

الباب السادس: الاستنتاجات

Conclusions

الاستنتاجات:

نستنتج في ضوء هذه الدراسة ما يلي:

1. فعالية الأميجدالين في علاج السرطان شائك الخلايا المحدث في الجيب الخدي للهامستر.
2. التشابه في الفعالية العلاجية بين الأميجدالين المستورد والأميجدالين المستخلص.
3. فعالية الأميجدالين المستورد في الوقاية والتأخير من حدوث السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي للهامستر.
4. يؤثر الأميجدالين على الخلايا السرطانية شائكة الخلايا ويكبح تكاثرها من خلال تأثيره على بروتينات الدورة الخلوية حيث أنه يكبح أو يخفض تعبيرية الـ P53.
5. يؤثر الأميجدالين على الخلايا السرطانية شائكة الخلايا ويكبح تكاثرها من خلال تأثيرها على البروتينات المنظمة للموت الخلوي المبرمج في الخلايا السرطانية شائكة الخلايا، حيث أنه يكبح الـ BCL2.
6. يؤثر الأميجدالين على سبيل الربط بين الخلوي، حيث أنه يعزز الربط بين الخلايا السليمة معزراً حالة الشفاء وهذا من خلال تأثيره الداعم للـ β -catenin.
7. لا يوجد للأميجدالين تأثيرات سمية على خلايا الأعضاء الحيوية الهامة، القلب والرئة وذلك لدى حيوانات التجربة.

الباب السابع: التوصيات والمقترحات

Recommendations and Suggestions

التوصيات والمقترحات:

1. نقترح إجراء بحث سريري يدرس فعالية الأميجدالين في القضاء على السرطانات الفموية وذلك على عينة من المرضى في المراحل الانتهازية من السرطان ممن يتلقون العلاج التقليدي في مشافي القطر.
2. نقترح اختبار فعالية الأميجدالين في الأبحاث التي تُعنى بأنواع أخرى من السرطانات الشائعة التي تصيب البشر.
3. نقترح دراسة فعالية الأميجدالين العلاجية خاصة في علاج الالتهابات، في مجالات أخرى في طب الأسنان، مثل التهاب النسيج حول السنية وأمراض اللب السني سواء لدى البالغين أو الأطفال وذلك بعد إعداد المادة للتطبيق الموضعي.
4. نوصي بالتوعية الطبية لدى العامة، حول خطورة تناول العشوائى للمكملات الغذائية وغير الخاضعة للرقابة الطبية.
5. نوصي بإدراج الأميجدالين كواحد من العلاجات البديلة الفعالية في القضاء على السرطان البشري شائك الخلايا الفموي.
6. نوصي بإدراج الأميجدالين كعقار وقائي من الإصابة بالسرطانات، وذلك تحت إشراف طبي.

الخاتمة

على الرغم من أن التجارب المخبرية على حيوانات التجربة ونسائل الخلايا البشرية السرطانية (human cell line)، قد أظهرت نتائجاً واعدة على صعيد تحديد المستقبلات النوعية على سطح الخلايا السرطانية ووضع علاجاً نوعياً يستهدف تلك المستقبلات تحديداً (Targeted therapy)، لكن يبقى هناك الكثير من الطروحات والأسئلة التي تنتظر إجابات أعمق وأكثر دقة، والتي تتم من خلال الدراسات الراهنة في مجال أبحاث الهندسة الوراثية (Genetic engineering) ويبقى المستقبل مفتوحاً أما التطورات العلمية المتسارعة.

- 1991a. Questionable cancer practices in Tijuana and other Mexican border clinics. *CA Cancer J Clin*, 41, 310-9.
- 1991b. Unproven methods of cancer management. Laetrile. *CA Cancer J Clin*, 41, 187-92.
1993. Cyanide toxicity. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Am Fam Physician*, 48, 107-14.
- 2002a. Laetrile/Amygdalin (PDQ(R)): Health Professional Version. *PDQ Cancer Information Summaries*. Bethesda (MD).
- 2002b. Laetrile/Amygdalin (PDQ(R)): Patient Version. *PDQ Cancer Information Summaries*. Bethesda (MD).
- 2002c. Topics in Complementary and Alternative Therapies (PDQ(R)): Health Professional Version. *PDQ Cancer Information Summaries*. Bethesda (MD).
- ABEL, E. L., ANGEL, J. M., KIGUCHI, K. & DIGIOVANNI, J. 2009. Multi-stage chemical carcinogenesis in mouse skin: fundamentals and applications. *Nat Protoc*, 4, 1350-62.
- AKHLAGHI, F., ESMAEELINEJAD, M., SHAMS, A. & AUGEND, A. 2014. Evaluation of neo-adjuvant, concurrent and adjuvant chemotherapy in the treatment of head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *J Dent (Tehran)*, 11, 290-301.
- AKHTER, M., HOSSAIN, S., RAHMAN, Q. B. & MOLLA, M. R. 2011. A study on histological grading of oral squamous cell carcinoma and its co-relationship with regional metastasis. *J Oral Maxillofac Pathol*, 15, 168-76.
- AL-SHIBLI, K., AL-SAAD, S., ANDERSEN, S., DONNEM, T., BREMNES, R. M. & BUSUND, L. T. 2010. The prognostic value of intraepithelial and stromal CD3-, CD117- and CD138-positive cells in non-small cell lung carcinoma. *APMIS*, 118, 371-82.
- ALIZADEH, A. M., SHIRI, S. & FARSINEJAD, S. 2014. Metastasis review: from bench to bedside. *Tumour Biol*, 35, 8483-523.

- AMES, M. M., MOYER, T. P., KOVACH, J. S., MOERTEL, C. G. & RUBIN, J. 1981. Pharmacology of amygdalin (laetrile) in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*, 6, 51-7.
- ANDREASEN, J. O. 1968. Oral lichen planus. 1. A clinical evaluation of 115 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 25, 31-42.
- ANNEROTH, G., BATSAKIS, J. & LUNA, M. 1987. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. *Scand J Dent Res*, 95, 229-49.
- ANNEROTH, G. & HANSEN, L. S. 1984. A methodologic study of histologic classification and grading of malignancy in oral squamous cell carcinoma. *Scand J Dent Res*, 92, 448-68.
- ARGYLE, D. J. & BLACKING, T. 2008. From viruses to cancer stem cells: dissecting the pathways to malignancy. *Vet J*, 177, 311-23.
- ARITOMI, M. & OHTA, S. 1999. [Structural biology of apoptosis proteins: recent advances in structural analysis of TNF-related, Fas-related, Bcl-2 family and caspase family proteins]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 44, 395-403.
- BABA, A. I. & CĂTOI, C. 2007. Comparative oncology. Bucharest: The Publishing House of the Romanian Academy,.
- BAILEY, R. L., GAHCHE, J. J., MILLER, P. E., THOMAS, P. R. & DWYER, J. T. 2013. Why US adults use dietary supplements. *JAMA Intern Med*, 173, 355-61.
- BALASUBRAMANIAN, S., KIM, K. H., AHMAD, N. & MUKHTAR, H. 1999. Activation of telomerase and its association with G1-phase of the cell cycle during UVB-induced skin tumorigenesis in SKH-1 hairless mouse. *Oncogene*, 18, 1297-302.
- BARNES, P. M., BLOOM, B. & NAHIN, R. L. 2008. Complementary and alternative medicine use among adults and children: United States, 2007. *Natl Health Stat Report*, 1-23.
- BASU, T. K. 1983. High-dose ascorbic acid decreases detoxification of cyanide derived from amygdalin (laetrile): studies in guinea pigs. *Can J Physiol Pharmacol*, 61, 1426-30.
- BERNACKI, R. J., NIEDBALA, M. J. & KORYTNYK, W. 1985. Glycosidases in cancer and invasion. *Cancer Metastasis Rev*, 4, 81-101.
- BHATTI RA, A. R., GUINAN PD 1981. Tumour-associated directed immunity in prostatic cancer: effect of amygdalin. *IRCS Med Sci Biochem*.
- BIANCA DE FÁTIMA BORIM PULINO, J. F. M. D. S., GABRIEL PIRES PASTORE, PATRÍCIA RADAIC, GERALDO PRESTES DE CAMARGO

- FILHO, RENATO ALVES PEREIRA 2011. Oral cancer: potentially malignant lesions and statistics of diagnosed cases in the municipality of Santo André-SP. 29, 231-4.
- BOS, R. & SHERMAN, L. A. 2010. CD4+ T-cell help in the tumor milieu is required for recruitment and cytolytic function of CD8+ T lymphocytes. *Cancer Res*, 70, 8368-77.
- BROMLEY, J., HUGHES, B. G., LEONG, D. C. & BUCKLEY, N. A. 2005. Life-threatening interaction between complementary medicines: cyanide toxicity following ingestion of amygdalin and vitamin C. *Ann Pharmacother*, 39, 1566-9.
- BW., N. (ed.) 2009. *Oral and maxillofacial pathology*: Louis, Mo.: Saunders Elsevier.
- CALABRESE, E. J. 1979. Possible adverse side effects from treatment with laetrile. *Med Hypotheses*, 5, 1045-9.
- CASSILETH, B. R. & YARETT, I. R. 2012. Cancer quackery: the persistent popularity of useless, irrational 'alternative' treatments. *Oncology (Williston Park)*, 26, 754-8.
- CHANG, F., SYRJANEN, S., TERVAHAUTA, A. & SYRJANEN, K. 1993. Tumourigenesis associated with the p53 tumour suppressor gene. *Br J Cancer*, 68, 653-61.
- CHANG, H. K., SHIN, M. S., YANG, H. Y., LEE, J. W., KIM, Y. S., LEE, M. H., KIM, J., KIM, K. H. & KIM, C. J. 2006. Amygdalin induces apoptosis through regulation of Bax and Bcl-2 expressions in human DU145 and LNCaP prostate cancer cells. *Biol Pharm Bull*, 29, 1597-602.
- CHANG, H. K., YANG, H. Y., LEE, T. H., SHIN, M. C., LEE, M. H., SHIN, M. S., KIM, C. J., KIM, O. J., HONG, S. P. & CHO, S. 2005. Armeniacae semen extract suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase [correction of cycloosygenase]-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells. *Biol Pharm Bull*, 28, 449-54.
- CHEN, Y., MA, J., WANG, F., HU, J., CUI, A., WEI, C., YANG, Q. & LI, F. 2013. Amygdalin induces apoptosis in human cervical cancer cell line HeLa cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 35, 43-51.
- CHEN, Y. K., HSUE, S. S. & LIN, L. M. 2003. Immunohistochemical demonstration of p63 in DMBA-induced hamster buccal pouch squamous cell carcinogenesis. *Oral Dis*, 9, 235-40.

- CHEN, Y. K. & LIN, L. M. 2010. DMBA-induced hamster buccal pouch carcinoma and VX2-induced rabbit cancer as a model for human oral carcinogenesis. *Expert Rev Anticancer Ther*, 10, 1485-96.
- CHENG, H., CAO, X., XIAN, M., FANG, L., CAI, T. B., JI, J. J., TUNAC, J. B., SUN, D. & WANG, P. G. 2005. Synthesis and enzyme-specific activation of carbohydrate-geldanamycin conjugates with potent anticancer activity. *J Med Chem*, 48, 645-52.
- CHITNIS, M. P., ADWANKAR, M. K. & AMONKAR, A. J. 1985. Studies on high-dose chemotherapy of amygdalin in murine P388 lymphocytic leukaemia and P815 mast cell leukaemia. *J Cancer Res Clin Oncol*, 109, 208-9.
- COOPER, G. M. & HAUSMAN, R. E. 2013. *The cell : a molecular approach*, Sunderland, MA, Sinauer Associates.
- CORNELLA, F. A., SAPER, C. D., CHRISTENSEN, R. E. & PARK, N. H. 1989. Effect of DMBA on oral cancer development in hamsters with latent HSV-1 infections in trigeminal ganglia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 67, 167-71.
- CURRAN, W. J. 1980. Law-medicine notes. Laetrile for the terminally ill: Supreme Court stops the nonsense. *N Engl J Med*, 302, 619-21.
- CURRIER, N., SOLOMON, S. E., DEMICCO, E. G., CHANG, D. L., FARAGO, M., YING, H., DOMINGUEZ, I., SONENSHEIN, G. E., CARDIFF, R. D., XIAO, Z. X., SHERR, D. H. & SELDIN, D. C. 2005. Oncogenic signaling pathways activated in DMBA-induced mouse mammary tumors. *Toxicol Pathol*, 33, 726-37.
- DEYHIMI, P., TORABINIA, N. & TORABINIA, A. 2013. A comparative study of histological grade and expression of Ki67 protein in oral squamous cell carcinoma in young and old patients. *Dent Res J (Isfahan)*, 10, 514-7.
- DIGIOVANNI, J. 1992. Multistage carcinogenesis in mouse skin. *Pharmacol Ther*, 54, 63-128.
- DORR, R. T. & PAXINOS, J. 1978. The current status of laetrile. *Ann Intern Med*, 89, 389-97.
- DRAGOMIR, L. P., SIMIONESCU, C., MARGARITESCU, C., STEPAN, A., DRAGOMIR, I. M. & POPESCU, M. R. 2012. P53, p16 and Ki67 immunoexpression in oral squamous carcinomas. *Rom J Morphol Embryol*, 53, 89-93.
- ELLISON, N. M., BYAR, D. P. & NEWELL, G. R. 1978. Special report on Laetrile: the NCI Laetrile Review. Results of the National Cancer

- Institute's retrospective Laetrile analysis. *N Engl J Med*, 299, 549-52.
- FLORA, K. P., CRADOCK, J. C. & AMES, M. M. 1978. A simple method for the estimation of amygdalin in the urine. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 20, 367-78.
- GARCIA, I., GOTOR, C. & ROMERO, L. C. 2014. Beyond toxicity: a regulatory role for mitochondrial cyanide. *Plant Signal Behav*, 9, e27612.
- GORDON, S. 2003. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol*, 3, 23-35.
- GOYAL D, G. P., SINGH HP, VERMA C 2013. An Update On Precancerous Lesions Of Oral Cavity. 2, 70-75.
- GREENBERG, D. M. 1980. The case against laetrile: the fraudulent cancer remedy. *Cancer*, 45, 799-807.
- GUPTA, P. C., MEHTA, F. S., DAFTARY, D. K., PINDBORG, J. J., BHONSLE, R. B., JALNAWALLA, P. N., SINOR, P. N., PITKAR, V. K., MURTI, P. R., IRANI, R. R., SHAH, H. T., KADAM, P. M., IYER, K. S., IYER, H. M., HEGDE, A. K., CHANDRASHEKAR, G. K., SHIROFF, B. C., SAHIAR, B. E. & MEHTA, M. N. 1980. Incidence rates of oral cancer and natural history of oral precancerous lesions in a 10-year follow-up study of Indian villagers. *Community Dent Oral Epidemiol*, 8, 283-333.
- GURUDATH, S., GANAPATHY, K., D, S., PAI, A., BALLAL, S. & ML, A. 2012. Estimation of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in oral submucous fibrosis, oral leukoplakia and oral cancer--a comparative study. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13, 4409-12.
- HA, U. S., BAE, W. J., KIM, S. J., YOON, B. I., HONG, S. H., LEE, J. Y., HWANG, T. K., HWANG, S. Y., WANG, Z. & KIM, S. W. 2015. Anthocyanin induces apoptosis of DU-145 cells in vitro and inhibits xenograft growth of prostate cancer. *Yonsei Med J*, 56, 16-23.
- HANSEN, L. S., OLSON, J. A. & SILVERMAN, S., JR. 1985. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 60, 285-98.
- HARRIS, C. C. 1996. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *J Natl Cancer Inst*, 88, 1442-55.
- HEBER, E. M., AROMANDO, R. F., TRIVILLIN, V. A., ITOIZ, M. E., NIGG, D. W., KREIMANN, E. L. & SCHWINT, A. E. 2007. Therapeutic effect of boron neutron capture therapy (BNCT) on field cancerized tissue:

- inhibition of DNA synthesis and lag in the development of second primary tumors in precancerous tissue around treated tumors in DMBA-induced carcinogenesis in the hamster cheek pouch oral cancer model. *Arch Oral Biol*, 52, 273-9.
- HOLMSTRUP, P., VEDTOFTE, P., REIBEL, J. & STOLTZE, K. 2006. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol*, 42, 461-74.
- HSUE, S. S., CHEN, Y. K. & LIN, L. M. 2008. Expression of survivin and XIAP for DMBA-induced hamster buccal pouch squamous cell carcinogenesis is associated with p53 accumulation. *Oral Oncol*, 44, 43-9.
- HWANG, E. Y., LEE, J. H., LEE, Y. M. & HONG, S. P. 2002. Reverse-phase HPLC separation of D-amygdalin and neoamygdalin and optimum conditions for inhibition of racemization of amygdalin. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 50, 1373-5.
- HWANG, H. J., LEE, H. J., KIM, C. J., SHIM, I. & HAHM, D. H. 2008. Inhibitory effect of amygdalin on lipopolysaccharide-inducible TNF-alpha and IL-1beta mRNA expression and carrageenan-induced rat arthritis. *J Microbiol Biotechnol*, 18, 1641-7.
- IAMAROON, A., KHEMALEELAKUL, U., PONGSIRIWET, S. & PINTONG, J. 2004. Co-expression of p53 and Ki67 and lack of EBV expression in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*, 33, 30-6.
- IMAI, K. & TAKAOKA, A. 2006. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer. *Nat Rev Cancer*, 6, 714-27.
- ISSRANI, R., PRABHU, N. & KELUSKAR, V. 2013. Oral proliferative verrucous leukoplakia: A case report with an update. *Contemp Clin Dent*, 4, 258-62.
- JAKOBSSON, P. A., ENEROTH, C. M., KILLANDER, D., MOBERGER, G. & MARTENSSON, B. 1973. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. *Acta Radiol Ther Phys Biol*, 12, 1-8.
- JANKOVIC, R., BRANKOVIC-MAGIC, M. & RADULOVIC, S. 2004. The past and the future of cancer genetics. *J BUON*, 9, 347-54.
- KANNAN, S., CHANDRAN, G. J., PILLAI, K. R., MATHEW, B., SUJATHAN, K., NALINAKUMARY, K. R. & NAIR, M. K. 1996. Expression of p53 in leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa: correlation with expression of Ki67. *Clin Mol Pathol*, 49, M170-5.

- KAPLAN, I., VENTURA-SHARABI, Y., GAL, G., CALDERON, S. & ANAVI, Y. 2012. The dynamics of oral lichen planus: a retrospective clinicopathological study. *Head Neck Pathol*, 6, 178-83.
- KHANDEKAR, J. D. & EDELMAN, H. 1979. Studies of amygdalin (laetrile) toxicity in rodents. *JAMA*, 242, 169-71.
- KIRAN KUMAR, D. C. S., MAHIMA DUA 2012. biopsy and tissue processing artifacts in oral mucosal tissue *International Journal of Head and Neck Surgery* 3, 92-98.
- KORMAN, D. B. 2012. [Alternative means of drug therapy in cancer: letril]. *Vopr Onkol*, 58, 698-704.
- KUMAR, V., ABBAS, A. K., ASTER, J. C. & ROBBINS, S. L. 2013. *Robbins basic pathology*, Philadelphia, PA, Elsevier/Saunders.
- KUMAR, V. & ROBBINS, S. L. 2007. *Robbins basic pathology*, Philadelphia, PA, Saunders/Elsevier.
- KUMARASWAMY, K. L., VIDHYA, M., RAO, P. K. & MUKUNDA, A. 2012. Oral biopsy: oral pathologist's perspective. *J Cancer Res Ther*, 8, 192-8.
- LAIJOLO, C., GIULIANI, M., SGAMBATO, A., MAJORANO, E., LUCCHESI, A., CAPODIFERRO, S. & FAVIA, G. 2008. N-(4-hydroxyphenyl)all-trans-retinamide (4-HPR) high dose effect on DMBA-induced hamster oral cancer: a histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 37, 1133-40.
- LAPTHANASUPKUL, P., POOMSAWAT, S. & PUNYASINGH, J. 2007. A clinicopathologic study of oral leukoplakia and erythroplakia in a Thai population. *Quintessence Int*, 38, e448-55.
- LASTER, W. R., JR. & SCHABEL, F. M., JR. 1975. Experimental studies of the antitumor activity of amygdalin MF (NSC-15780) alone and in combination with beta-glucosidase (NSC-128056). *Cancer Chemother Rep*, 59, 951-65.
- LEE, H. M. & MOON, A. 2016. Amygdalin Regulates Apoptosis and Adhesion in Hs578T Triple-Negative Breast Cancer Cells. *Biomol Ther (Seoul)*, 24, 62-6.
- LEOR, R., MICHAELI, J., BREZIS, M. & STESSMAN, J. 1986. Laetrile intoxication and hepatic necrosis: a possible association. *South Med J*, 79, 259-60.
- LEWIS, J. P. 1977. Laetrile. *West J Med*, 127, 55-62.
- LI, N., CHEN, X., LIAO, J., YANG, G., WANG, S., JOSEPHSON, Y., HAN, C., CHEN, J., HUANG, M. T. & YANG, C. S. 2002. Inhibition of 7,12-

- dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced oral carcinogenesis in hamsters by tea and curcumin. *Carcinogenesis*, 23, 1307-13.
- LI, Y. L., LI, Q. X., LIU, R. J. & SHEN, X. Q. 2015. Chinese medicine amygdalin and beta-glucosidase combined with antibody enzymatic prodrug system as a feasible antitumor therapy. *Chin J Integr Med*.
- LOWE, S. W. & LIN, A. W. 2000. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21, 485-95.
- LV, W. F., DING, M. Y. & ZHENG, R. 2005. Isolation and quantitation of amygdalin in Apricot-kernel and Prunus Tomentosa Thunb. by HPLC with solid-phase extraction. *J Chromatogr Sci*, 43, 383-7.
- MAKAREVIC, J., RUTZ, J., JUENGEL, E., KAULFUSS, S., REITER, M., TSAUR, I., BARTSCH, G., HAUSERKAMP, A. & BLAHETA, R. A. 2014a. Amygdalin blocks bladder cancer cell growth in vitro by diminishing cyclin A and cdk2. *PLoS One*, 9, e105590.
- MAKAREVIC, J., RUTZ, J., JUENGEL, E., KAULFUSS, S., TSAUR, I., NELSON, K., PFITZENMAIER, J., HAUSERKAMP, A. & BLAHETA, R. A. 2014b. Amygdalin influences bladder cancer cell adhesion and invasion in vitro. *PLoS One*, 9, e110244.
- MARGARITESCU, C., SIMIONESCU, C., MOGOANTA, L., BADEA, P., PIRICI, D., STEPAN, A. & CIUREA, R. 2008. Endoglin (CD105) and microvessel density in oral squamous cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol*, 49, 321-6.
- MARZO, A. L., KINNEAR, B. F., LAKE, R. A., FRELINGER, J. J., COLLINS, E. J., ROBINSON, B. W. & SCOTT, B. 2000. Tumor-specific CD4+ T cells have a major "post-licensing" role in CTL mediated anti-tumor immunity. *J Immunol*, 165, 6047-55.
- MEDRI, L., VOLPI, A., NANNI, O., VECCI, A. M., MANGIA, A., SCHITTULLI, F., PADOVANI, F., GIUNCHI, D. C., ZITO, A., AMADORI, D., PARADISO, A. & SILVESTRINI, R. 2003. Prognostic relevance of mitotic activity in patients with node-negative breast cancer. *Mod Pathol*, 16, 1067-75.
- MEGARBANE, B., DELAHAYE, A., GOLDGRAN-TOLEDANO, D. & BAUD, F. J. 2003. Antidotal treatment of cyanide poisoning. *J Chin Med Assoc*, 66, 193-203.
- MESSADI, D. V. 2013. Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions. *Int J Oral Sci*, 5, 59-65.
- MEZA-JUNCO, J., MONTANO-LOZA, A. & AGUAYO-GONZALEZ, A. 2006. [Molecular basis of cancer]. *Rev Invest Clin*, 58, 56-70.

- MILAZZO, S., ERNST, E., LEJEUNE, S. & SCHMIDT, K. 2006. Laetrile treatment for cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, CD005476.
- MILAZZO, S., LEJEUNE, S. & ERNST, E. 2007. Laetrile for cancer: a systematic review of the clinical evidence. *Support Care Cancer*, 15, 583-95.
- MIRMIRANPOUR, H., KHAGHANI, S., ZANDIEH, A., KHALILZADEH, O. O., GERAYESH-NEJAD, S., MORTEZA, A. & ESTEGHAMATI, A. 2012. Amygdalin inhibits angiogenesis in the cultured endothelial cells of diabetic rats. *Indian J Pathol Microbiol*, 55, 211-4.
- MIYATA, M., FURUKAWA, M., TAKAHASHI, K., GONZALEZ, F. J. & YAMAZOE, Y. 2001. Mechanism of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced immunotoxicity: role of metabolic activation at the target organ. *Jpn J Pharmacol*, 86, 302-9.
- MOERTEL, C. G., AMES, M. M., KOVACH, J. S., MOYER, T. P., RUBIN, J. R. & TINKER, J. H. 1981. A pharmacologic and toxicological study of amygdalin. *JAMA*, 245, 591-4.
- MOERTEL, C. G., FLEMING, T. R., RUBIN, J., KVOLS, L. K., SARNA, G., KOCH, R., CURRIE, V. E., YOUNG, C. W., JONES, S. E. & DAVIGNON, J. P. 1982. A clinical trial of amygdalin (Laetrile) in the treatment of human cancer. *N Engl J Med*, 306, 201-6.
- MORI, K., HIROI, M., SHIMADA, J. & OHMORI, Y. 2011. Infiltration of m2 tumor-associated macrophages in oral squamous cell carcinoma correlates with tumor malignancy. *Cancers (Basel)*, 3, 3726-39.
- MURTI, P. R., BHONSLE, R. B., PINDBORG, J. J., DAFTARY, D. K., GUPTA, P. C. & MEHTA, F. S. 1985. Malignant transformation rate in oral submucous fibrosis over a 17-year period. *Community Dent Oral Epidemiol*, 13, 340-1.
- NAIR, D. R., PRUTHY, R., PAWAR, U. & CHATURVEDI, P. 2012. Oral cancer: Premalignant conditions and screening--an update. *J Cancer Res Ther*, 8 Suppl 1, S57-66.
- NEVILLE, B. W. 2002. *Oral & maxillofacial pathology*, Philadelphia, W.B. Saunders.
- NEWMARK, J., BRADY, R. O., GRIMLEY, P. M., GAL, A. E., WALLER, S. G. & THISTLETHWAITE, J. R. 1981. Amygdalin (Laetrile) and prunasin beta-glucosidases: distribution in germ-free rat and in human tumor tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 78, 6513-6.

- NEWTON, G. W., SCHMIDT, E. S., LEWIS, J. P., CONN, E. & LAWRENCE, R. 1981. Amygdalin toxicity studies in rats predict chronic cyanide poisoning in humans. *West J Med*, 134, 97-103.
- ORTEGEL, J. W., STAREN, E. D., FABER, L. P., WARREN, W. H. & BRAUN, D. P. 2002. Modulation of tumor-infiltrating lymphocyte cytolytic activity against human non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 36, 17-25.
- ORTIZ, G. M., PIERCE, A. M. & WILSON, D. F. 1996. Palatal changes associated with reverse smoking in Filipino women. *Oral Dis*, 2, 232-7.
- OWENS, K. 2015. Boundary objects in complementary and alternative medicine: acupuncture vs. Christian Science. *Soc Sci Med*, 128, 18-24.
- PANWAR SK1, B. A. 2013. Precancerous Oral Lesions: A Review. *Journal of Oral Health Community Dentistry*, 7, 119-126.
- PAOLETTI, I., DE GREGORIO, V., BARONI, A., TUFANO, M. A., DONNARUMMA, G. & PEREZ, J. J. 2013. Amygdalin analogues inhibit IFN-gamma signalling and reduce the inflammatory response in human epidermal keratinocytes. *Inflammation*, 36, 1316-26.
- PARDEEP GOYAL, D. G., IMTIYAZ NADAF, & ASHISH AGGARWAL, I. G. 2012. Potentially Malignant Disorders: An Update. *Journal of Dental Esthetic and Function*, 1, 30-34.
- PARK, H. J., YOON, S. H., HAN, L. S., ZHENG, L. T., JUNG, K. H., UHM, Y. K., LEE, J. H., JEONG, J. S., JOO, W. S., YIM, S. V., CHUNG, J. H. & HONG, S. P. 2005. Amygdalin inhibits genes related to cell cycle in SNU-C4 human colon cancer cells. *World J Gastroenterol*, 11, 5156-61.
- PARK, J. H., SEO, B. I., CHO, S. Y., PARK, K. R., CHOI, S. H., HAN, C. K., SONG, C. H., PARK, S. J. & KU, S. K. 2013. Single oral dose toxicity study of prebrewed armeniacae semen in rats. *Toxicol Res*, 29, 91-8.
- PEREZ-GOMEZ, E., DEL CASTILLO, G., JUAN FRANCISCO, S., LOPEZ-NOVOA, J. M., BERNABEU, C. & QUINTANILLA, M. 2010. The role of the TGF-beta coreceptor endoglin in cancer. *ScientificWorldJournal*, 10, 2367-84.
- PETERSON, R. G. & RUMACK, B. H. 1979. Laetrile and pregnancy. *Clin Toxicol*, 15, 181-4.

- PETTI, S. 2003. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. *Oral Oncol*, 39, 770-80.
- PHAM, J. C., HUANG, D. T., MCGEORGE, F. T. & RIVERS, E. P. 2007. Clarification of cyanide's effect on oxygen transport characteristics in a canine model. *Emerg Med J*, 24, 152-6.
- PUNEET KUMAR, R. D., PRINCE KUMAR, HARKANWAL P. SINGH, SURESH YADAV, SHALLU TYAGI 2012. Imperative role of early diagnosis in precancerous lesions: Old ideas, new findings, yet more questions
Clinical Cancer Investigation Journal, 1, 184-189.
- QIAN, L., XIE, B., WANG, Y. & QIAN, J. 2015. Amygdalin-mediated inhibition of non-small cell lung cancer cell invasion in vitro. *Int J Clin Exp Pathol*, 8, 5363-70.
- REICHART, P. A. & PHILIPSEN, H. P. 2005. Oral erythroplakia--a review. *Oral Oncol*, 41, 551-61.
- RIDLEY, C. M. 1992. Lichen sclerosus. *Dermatol Clin*, 10, 309-23.
- RM LOGAN, A. G. 2010. Biopsy of the oral mucosa and use of histopathology services. *Australian Dental Journal*, 55, 9-13.
- SADOFF, L., FUCHS, K. & HOLLANDER, J. 1978. Rapid death associated with laetrile ingestion. *JAMA*, 239, 1532.
- SAUER, H., WOLLNY, C., OSTER, I., TUTDIBI, E., GORTNER, L., GOTTSCHLING, S. & MEYER, S. 2015. Severe cyanide poisoning from an alternative medicine treatment with amygdalin and apricot kernels in a 4-year-old child. *Wien Med Wochenschr*, 165, 185-8.
- SAWYERS, C. 2004. Targeted cancer therapy. *Nature*, 432, 294-7.
- SCHMIDT, E. S., NEWTON, G. W., SANDERS, S. M., LEWIS, J. P. & CONN, E. E. 1978. Laetrile toxicity studies in dogs. *JAMA*, 239, 943-7.
- SHIBUYA, T. Y., NUGYEN, N., MCLAREN, C. E., LI, K. T., WEI, W. Z., KIM, S., YOO, G. H., ROGOWSKI, A., ENSLEY, J. & SAKR, W. 2002. Clinical significance of poor CD3 response in head and neck cancer. *Clin Cancer Res*, 8, 745-51.
- SHILS, M. E. & HERMANN, M. G. 1982. Unproved dietary claims in the treatment of patients with cancer. *Bull N Y Acad Med*, 58, 323-40.
- SHIM, J. M. 2015. The influence of social context on the treatment outcomes of complementary and alternative medicine: the case of acupuncture and herbal medicine in Japan and the U.S. *Global Health*, 11, 17.

- SHINGAKI, S., SUZUKI, I., NAKAJIMA, T. & KAWASAKI, T. 1988. Evaluation of histopathologic parameters in predicting cervical lymph node metastasis of oral and oropharyngeal carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 66, 683-8.
- SJODAHL, G., LOVGREN, K., LAUSS, M., CHEBIL, G., PATSCHAN, O., GUDJONSSON, S., MANSSON, W., FERNO, M., LEANDERSSON, K., LINDGREN, D., LIEBERG, F. & HOGLUND, M. 2014. Infiltration of CD3(+) and CD68(+) cells in bladder cancer is subtype specific and affects the outcome of patients with muscle-invasive tumors. *Urol Oncol*, 32, 791-7.
- SONG, Z. & XU, X. 2014. Advanced research on anti-tumor effects of amygdalin. *J Cancer Res Ther*, 10 Suppl 1, 3-7.
- SPENCER, K. R., FERGUSON, J. W. & WIESENFELD, D. 2002. Current concepts in the management of oral squamous cell carcinoma. *Aust Dent J*, 47, 284-9; quiz 351.
- STOCK, C. C., TARNOWSKI, G. S., SCHMID, F. A., HUTCHISON, D. J. & TELLER, M. N. 1978. Antitumor tests of amygdalin in transplantable animal tumor systems. *J Surg Oncol*, 10, 81-8.
- SUCHARD, J. R., WALLACE, K. L. & GERKIN, R. D. 1998. Acute cyanide toxicity caused by apricot kernel ingestion. *Ann Emerg Med*, 32, 742-4.
- SUGERMAN, P. B., SAVAGE, N. W., WALSH, L. J., ZHAO, Z. Z., ZHOU, X. J., KHAN, A., SEYMOUR, G. J. & BIGBY, M. 2002. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13, 350-65.
- SYRIGOS, K. N., ROWLINSON-BUSZA, G. & EPIKETOS, A. A. 1998. In vitro cytotoxicity following specific activation of amygdalin by beta-glucosidase conjugated to a bladder cancer-associated monoclonal antibody. *Int J Cancer*, 78, 712-9.
- TADBIR, A. A., ASHRAF, M. J. & MORADI, M. 2014. Clinicopathological Significance of CD105 Expression in Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity. *Middle East Journal of Cancer*, 5, 7-12.
- TIAN, C., LU, S., FAN, Q., ZHANG, W., JIAO, S., ZHAO, X., WU, Z., SUN, L. & WANG, L. 2015. Prognostic significance of tumor-infiltrating CD8(+) or CD3(+) T lymphocytes and interleukin-2 expression in radically resected non-small cell lung cancer. *Chin Med J (Engl)*, 128, 105-10.
- TILAKARATNE, W. M., KLINIKOWSKI, M. F., SAKU, T., PETERS, T. J. & WARNAKULASURIYA, S. 2006. Oral submucous fibrosis: review on aetiology and pathogenesis. *Oral Oncol*, 42, 561-8.

- TOHYAMA, M., HANAKAWA, Y., SHIRAKATA, Y., DAI, X., YANG, L., HIRAKAWA, S., TOKUMARU, S., OKAZAKI, H., SAYAMA, K. & HASHIMOTO, K. 2009. IL-17 and IL-22 mediate IL-20 subfamily cytokine production in cultured keratinocytes via increased IL-22 receptor expression. *Eur J Immunol*, 39, 2779-88.
- VAN DER MEIJ, E. H., MAST, H. & VAN DER WAAL, I. 2007. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective five-year follow-up study of 192 patients. *Oral Oncol*, 43, 742-8.
- VERMA, R., SINGH, A., JAISWAL, R., CHANDRA, A. & TAK, J. 2014. Association of Ki-67 antigen and p53 protein at invasive tumor front of oral squamous cell carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol*, 57, 553-7.
- VICKERS, A. 2004. Alternative cancer cures: "unproven" or "disproven"? *CA Cancer J Clin*, 54, 110-8.
- VICKERS, A. J., KUO, J. & CASSILETH, B. R. 2006. Unconventional anticancer agents: a systematic review of clinical trials. *J Clin Oncol*, 24, 136-40.
- VOGEL, S. N., SULTAN, T. R. & TEN EYCK, R. P. 1981. Cyanide poisoning. *Clin Toxicol*, 18, 367-83.
- WANI, M. K., YARBER, R. H., AHMED, A., HENGESTEG, A. & ROBBINS, K. T. 2001. Cancer induction in the DMBA hamster cheek pouch: a modified technique using a promoter. *Laryngoscope*, 111, 204-6.
- WARNAKULASURIYA, K. A. & JOHNSON, N. W. 1996. Sensitivity and specificity of OraScan (R) toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med*, 25, 97-103.
- WARNAKULASURIYA, S., JOHNSON, N. W. & VAN DER WAAL, I. 2007. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med*, 36, 575-80.
- YANG, H. Y., CHANG, H. K., LEE, J. W., KIM, Y. S., KIM, H., LEE, M. H., SHIN, M. S., HAM, D. H., PARK, H. K., LEE, H. & KIM, C. J. 2007. Amygdalin suppresses lipopolysaccharide-induced expressions of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase in mouse BV2 microglial cells. *Neurol Res*, 29 Suppl 1, S59-64.
- YIP, K. W. & REED, J. C. 2008. Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene*, 27, 6398-406.
- YOUNG, B. & WHEATER, P. R. 2006. *Wheater's functional histology : a text and colour atlas*, Oxford, Churchill Livingstone Elsevier.

- YOUNG, V. R. & NEWBERNE, P. M. 1981. Vitamins and cancer prevention: issues and dilemmas. *Cancer*, 47, 1226-40.
- ZHOU, C., QIAN, L., MA, H., YU, X., ZHANG, Y., QU, W., ZHANG, X. & XIA, W. 2012. Enhancement of amygdalin activated with beta-D-glucosidase on HepG2 cells proliferation and apoptosis. *Carbohydr Polym*, 90, 516-23.
- ZYGOGIANNI, A. G., KYRGIAS, G., KARAKITSOS, P., PSYRRI, A., KOUVARIS, J., KELEKIS, N. & KOULOULIAS, V. 2011. Oral squamous cell cancer: early detection and the role of alcohol and smoking. *Head Neck Oncol*, 3, 2.

المراجع العربية:

1. دراسة فعالية الفيتامين د 1-Alpha,25-Dihydroxy Vitamin D3 تجاه السرطان شائك الخلايا الفموي المستحدث لدى حيوانات التجربة "الهامستر" (رسالة ماجستير - د.أنس رباطة- قسم النسيج والتشريح المرض للفم والأسنان- 2011).

الملخص

المقدمة:

يشكل السرطان واحداً من أبرز الأمراض التي تهدد الجنس البشري، لذلك تعتمد الدراسات إلى تحديد عوامل الخطورة الرئيسية الكامنة وراء الإصابة به، إضافة إلى التوجه نحو وضع خطط العلاج الأفضل والبحث في سبل الوقاية من الإصابة. ونظراً للتوجه العام الملحوظ في الآونة الأخيرة نحو العلاج البديل والمكمل، عمدنا في هذه الدراسة إلى تقصي دور إحدى هذه المواد البديلة والتي تشكل جدلاً في استخدامها كعلاج فعال للسرطان شائك الخلايا، السرطان الفموي الأكثر شيوعاً.

المواد والطرق:

تألفت الدراسة من ثلاث تجارب منفصلة. كانت التجربة الأولى الدراسة الاستطلاعية. تألفت الثانية من مجموعة من الهامسترات الذين تلقوا الأميجدالين بالطريق الفموي تناوباً مع المادة السرطانية، لدراسة التأثير الدوائي للعقار. وأخيراً، تألفت التجربة الأخيرة من مجموعة من الهامسترات الذين طبقت مادة الأميجدالين لديها حقناً في البريتوان بعد أن كنّا قد أحدثنا السرطان شائك الخلايا لديها. إضافة إلى مجموعة سليمة، حُقن الأميجدالين لديها في البريتوان كذلك، بهدف دراسة تأثير العقار على النسيج الحيوية الهامة، القلب والرئة.

النتائج: تبين في هذه الدراسة فعالية الأميجدالين في القضاء على السرطان شائك الخلايا عن طريق حقنه بالبريتوان وذلك من خلال تثبيط دور البروتين BCL2 وتعزيز تعبيرية بروتين الـ beta-catanin الغشائي. ولم يترك أي أثر سام على نسيجي القلب والرئة.

الاستنتاجات: يلعب الأميجدالين دوراً هاماً سواء في الوقاية من الإصابة السرطانية أو في وضع حد لتقدم الآفات السرطانية.

الكلمات المفتاحية: الأميجدالين، السرطان شائك الخلايا، الهامستر، الوقاية، العلاج.

Abstract

Background:

Cancer is considered one of the most diseases that threaten the human beings. Recent studies are concerning this point, and focusing on studying the major risk factors, contributing to the incidence of cancer, and searching for the best ways of treatment. Because of the general drifting towards using complementary and alternative medicine (CAM) , we adopted in this study the amygdalin, as one of the most CAM that has been using in this field for years and still under debate, and studied its role in treating oral squamous cell carcinoma, the most common cancer in the oral cavity.

Materials and methods:

Our study composed of three separated experimental groups. the first one is the pilot study group. The second group consisted of the hamster which have amygdalin as a preventive agent orally. The last group, amygdalin was injected in the peritonea of the hamster who have already had the carcinoma in their pouches. In addition to the normal group, in which we study the impact of amygdalin on two important vital organs, the heart and the lung.

Results:

This study has shown the efficacy of amygdalin in treating squamous cell carcinoma by downregulating BCL2 and upregulating beta-catanin. It has no toxic side effect on heart or lung tissue.

Conclusion: Limited to these study, amygdalin is considered an effective natural- extracted product, that could either prevent or treat the squamous cell carcinoma

key words: Amygdalin, squamous cell carcinoma, hamsters, prevention, treatment.

ملحق صور البحث



الشكل 14 مجموعة من الهامسترات من عينة البحث



الشكل 13 مجموعة من الهامسترات من عينة البحث



الشكل 16 الميزان المستخدم في وزن البذور بعد طحنها



الشكل 15 بذور المشمش المر التي تم استخدامها في استخلاص مادة الأميغدالين



الشكل 18 تحضير الأميغدالين: ترشيح الخلاصة على ورق نشاف



الشكل 17 تحضير الأميغدالين: نقع الحبوب بعد طحنها في محلول الايثر



الشكل 19 مادة الأميجدالين التجارية من شركة Terezia



الشكل 21 دهن المادة السرطانية في الجيب الخدي



الشكل 20 الحقن البريتواني لمادة الأميجدالين



الشكل 23 ظهور الورم الحليمي الشائك في المخاطية الخدية للهامستر أثناء تطبيق المادة السرطانية (الأسبوع السابع)



الشكل 22 بداية ظهور التغيرات في المخاطية الخدية أثناء تطبيق المادة السرطانية (الأسبوع الخامس)



الشكل 24 الجيب الخدي للهامستر بعد الاستئصال



الشكل 26 جانب من العمل المخبري: صب العينات النسيجية في قوالب من شمع البارافين



الشكل 25 جانب من العمل المخبري: صب العينات النسيجية في قوالب من شمع البارافين



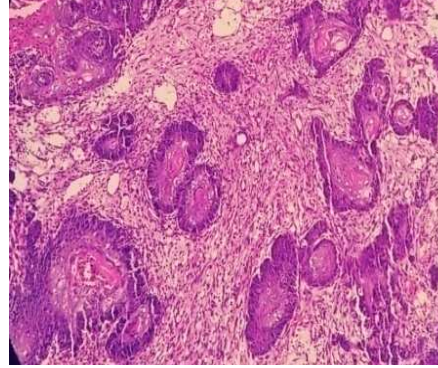
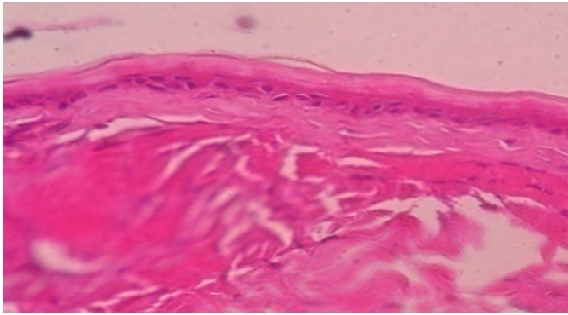
الشكل 28 من مراحل التلوين المناعي: تطبيق الـ DAB



الشكل 27 من مراحل التلوين المناعي: الحضانة بالمحلول الدائري

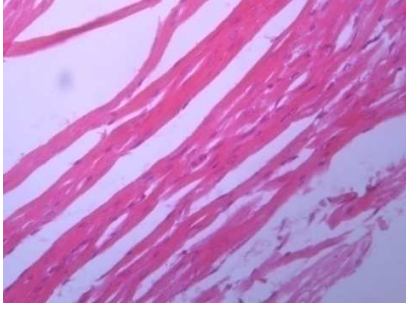


الشكل 29 من مراحل التلوين المناعي لعينات البحث

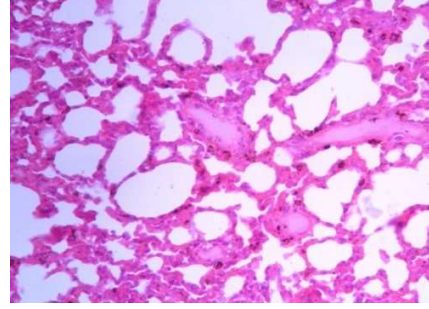


الشكل 31 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي ($100\times$)
تبدي خلو ظاهرة الجيب الخدي للهامستر من
التغيرات الورمية في التجربة الثانية

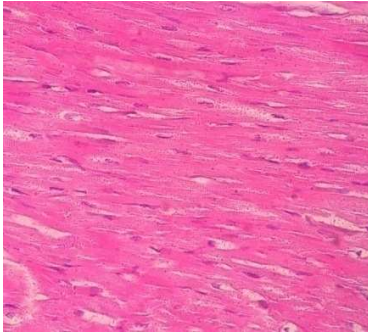
الشكل 30 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي ($100\times$) تبدي
تشكل السرطان شائك الخلايا في الجيب الخدي بعد مرور
3 أشهر ونصف



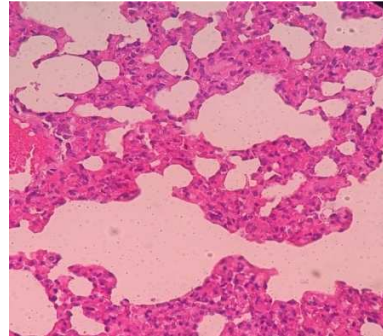
الشكل 33 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $100\times$) يبدى مقاطع سليمة لألياف العضلة القلبية



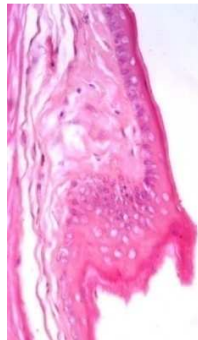
الشكل 32 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $100\times$) يبدى التهاب الرئة الخلالي لدى هامستر من التجربة الأولى- اليوم الخامس



الشكل 35 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (400 $\times$) تبيى سلامة ألياف العضلة القلبية لهامستر من التجربة الأولى- اليوم 15



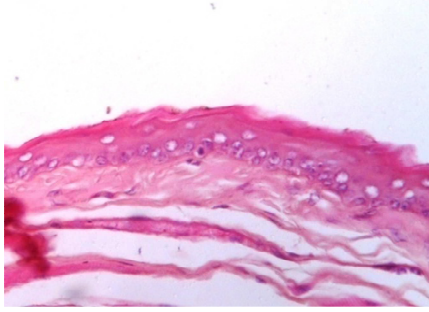
الشكل 34 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100 $\times$) تبيى التهاب الخلالي في الرئة لهامستر من التجربة الأولى- اليوم 15



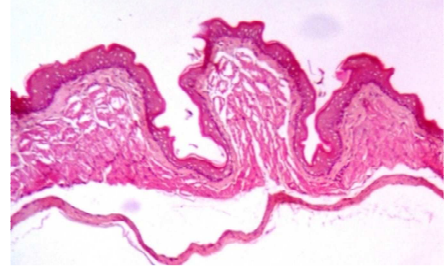
الشكل 37 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $100\times$) لهامستر من التجربة الرابعة- تبيى سوء تصنع بسيط في البشرة- اليوم الخامس عشر



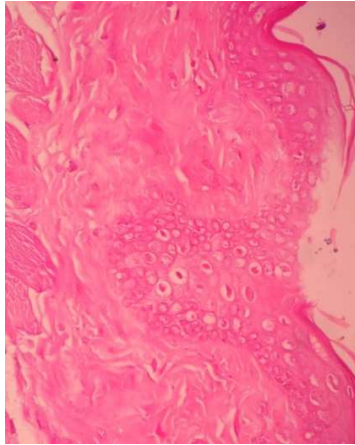
الشكل 36 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $100\times$) لهامستر من التجربة الرابعة تبيى فرط تصنع في الطبقة القاعدية وفوق القاعدية-اليوم الخامس عشر



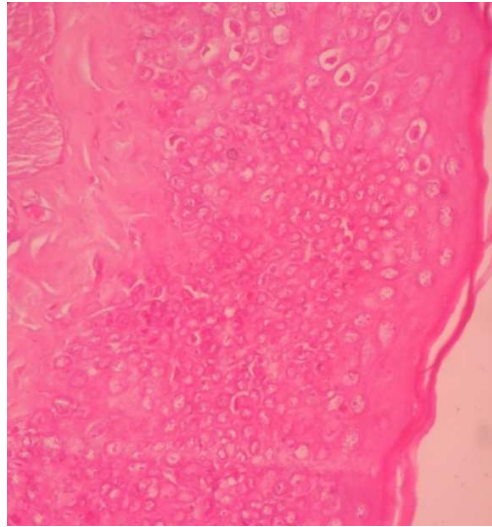
الشكل 39 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي مقاطع سليمة في بشرة الجيب الحدي للهامستر- اليوم العشرون



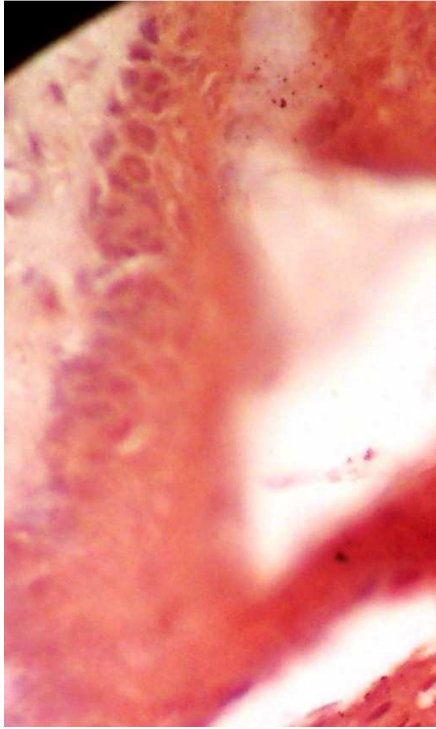
الشكل 38 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (100×) تبدي فرط تصنع في البشرة في طبقة الخلايا القاعدية- اليوم العشرون



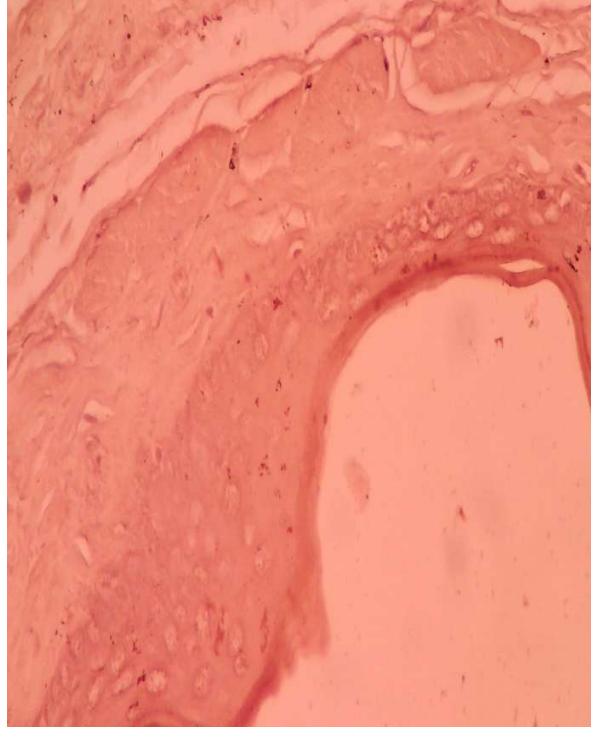
الشكل 41 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (400×) تبدي سوء التصنع في الخلايا البشروية في الجيب الحدي للهامستر من التجربة الرابعة



الشكل 40 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير 400×) تبدي فرط التصنع البشروي المترافق مع سوء تصنع متوسط الدرجة في الجيب الحدي للهامستر من التجربة الثالثة



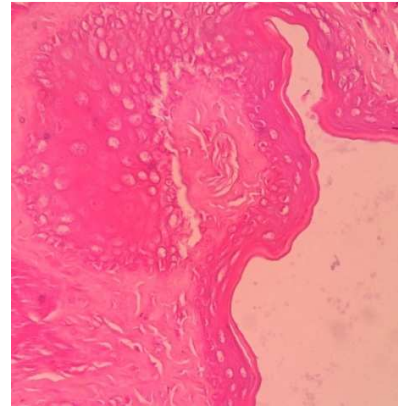
الشكل 43 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي
ايجابية الملون المناعي bcl2 في إحدى العينات
من التجربة الثالثة



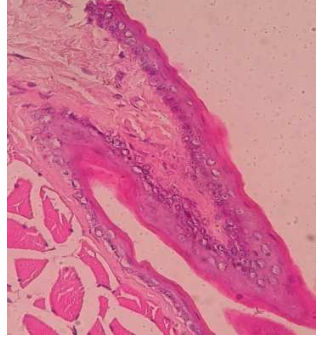
الشكل 42 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي سلبية الملون
المناعي β -catenin في أحد العينات من التجربة الثالثة



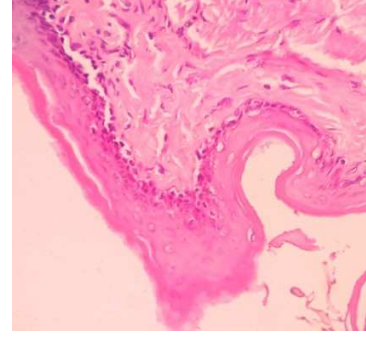
الشكل 45 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي
(تكبير $100\times$) تبدي فرط تصنع في بشرة الجيب الخدي
لهامستر من التجربة الثانية



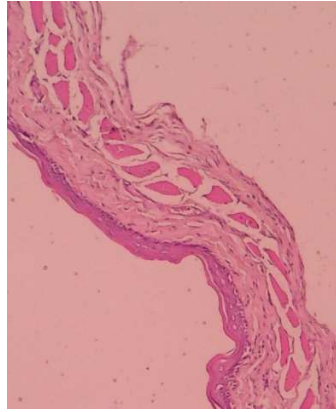
الشكل 44 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير
 $400\times$) تبدي فرط التصنع في بشرة الجيب الخدي
لهامستر من المجموعة الثانية



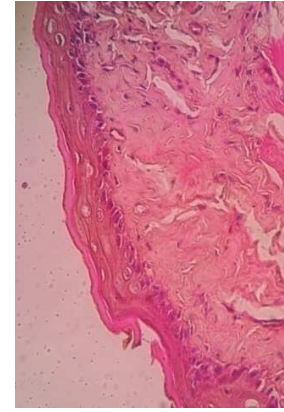
الشكل 47 صورة مجهرية (تكبير $100\times$) تبدي سوء التصنع في الجيب الخدي لهامستر من التجربة الرابعة – اليوم العاشر



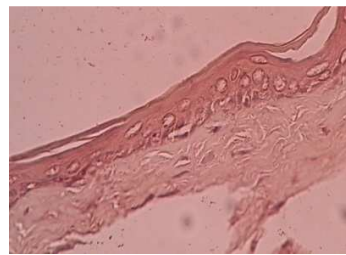
الشكل 46 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $400\times$) تبدي فرط التصنع في الطبقة القاعدة وفوق القاعدية في الجيب الخدي لهامستر من التجربة الرابعة- اليوم العاشر



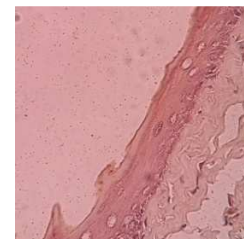
الشكل 49 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $100\times$) تبدي البشرة الطبيعية للجيب الخدي للهامستر في اليوم العشرين من التجربة الثالثة



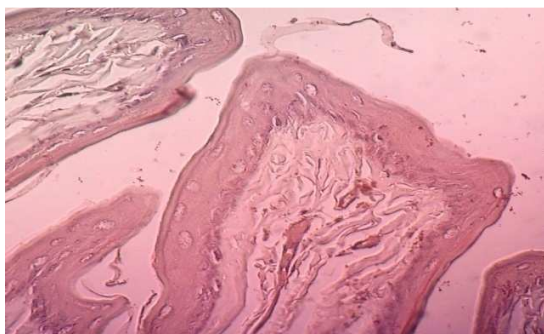
الشكل 48 صورة مجهرية بالتلوين التقليدي (تكبير $400\times$) تبدي البشرة الطبيعية للجيب الخدي للهامستر في اليوم العشرين من التجربة الرابعة



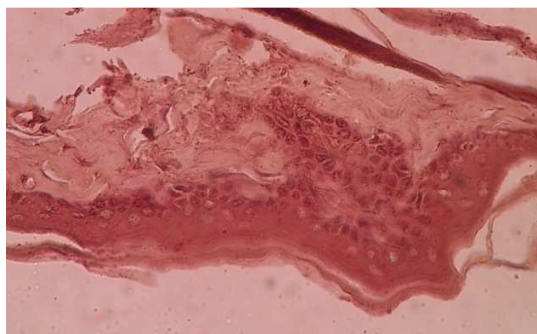
الشكل 51 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي سلبية الملون المناعي P53 في بشرة الجيب الخدي لهامستر من التجربة الرابعة- اليوم العشرون



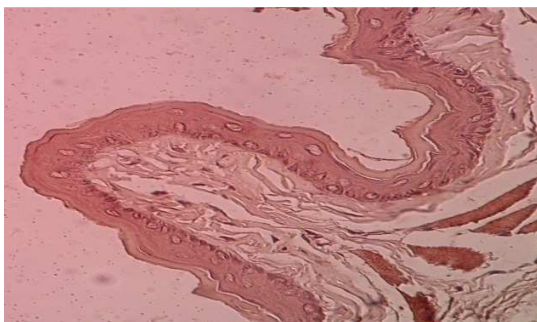
الشكل 50 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي سلبية الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي لهامستر من التجربة الرابعة- اليوم العشرون



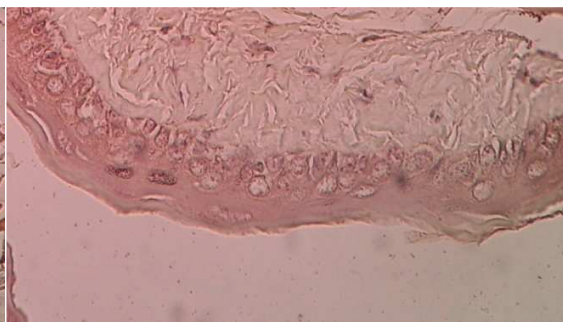
الشكل 53 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي ايجابية
الملون المناعي p53 في بشرة الجيب الخدي للهامستر
من التجربة الرابعة-اليوم العاشر



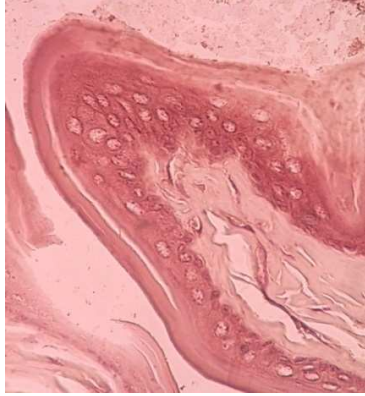
الشكل 52 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي ايجابية
الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر
من التجربة الرابعة-اليوم العاشر



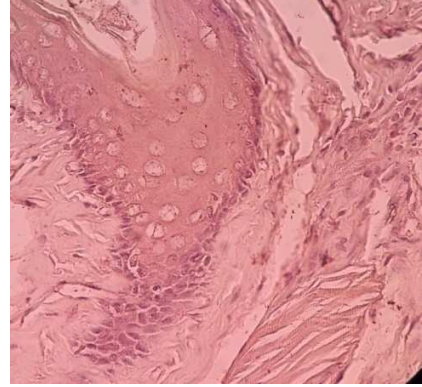
الشكل 55 صورة مجهرية (تكبير $100\times$) تبدي ايجابية
الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر
من التجربة الرابعة-اليوم العاشر



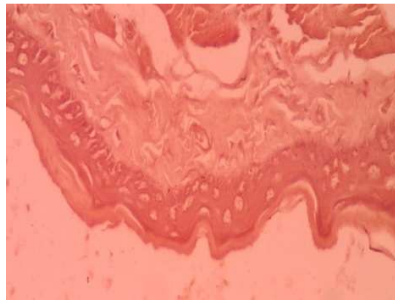
الشكل 54 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي سلبية
الملون المناعي β -catenin في بشرة الجيب الخدي
للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر



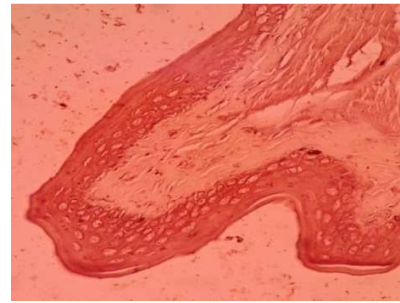
الشكل 57 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي ايجابية
الملون المناعي β -catenin في بشرة الجيب الخدي
للهامستر من التجربة الرابعة-اليوم العاشر



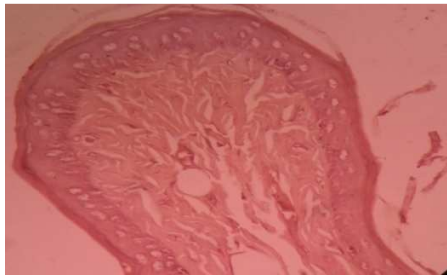
الشكل 56 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي ايجابية
الملون المناعي P53 في بشرة الجيب الخدي للهامستر
من التجربة الرابعة-اليوم العاشر



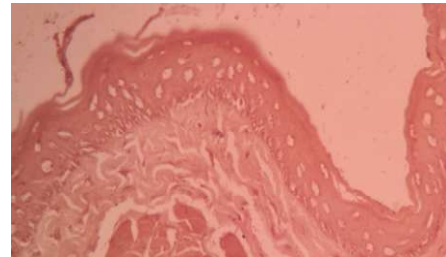
الشكل 59 صورة مجهرية (تكبير $100\times$) تبدي سلبية
الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر
من التجربة الثانية



الشكل 58 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي ايجابية
الملون المناعي β -catenin في بشرة الجيب الخدي
للهامستر من التجربة الثانية



الشكل 61 صورة مجهرية (تكبير $100\times$) تبدي سلبية
الملون المناعي bcl2 في بشرة الجيب الخدي للهامستر
من التجربة الثانية



الشكل 60 صورة مجهرية (تكبير $400\times$) تبدي سلبية
الملون المناعي p53 في بشرة الجيب الهدي للهامستر
من التجربة الثانية

