

مجلة جامعة حمص

سلسلة العلوم الطبية والصحية



مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 48 . العدد 1

1447 هـ - 2026 م

الأستاذ الدكتور طارق حسام الدين رئيس جامعة حمص

المدير المسؤول عن المجلة

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الإنسانية	أ. د. وليد حمادة
رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية	د.نعيمة عجيب

عضو هيئة التحرير	د. محمد فراس رمضان
عضو هيئة التحرير	د. مضر سعود
عضو هيئة التحرير	د. ممدوح عبارة
عضو هيئة التحرير	د. موفق تلاوي
عضو هيئة التحرير	د. طلال رزوق
عضو هيئة التحرير	د. أحمد الجاعور
عضو هيئة التحرير	د. الياس خلف
عضو هيئة التحرير	د. روعة الفقس
عضو هيئة التحرير	د. محمد الجاسم
عضو هيئة التحرير	د. خليل الحسن
عضو هيئة التحرير	د. هيثم حسن
عضو هيئة التحرير	د. أحمد حاج موسى

تهدف المجلة إلى نشر البحوث العلمية الأصيلة، ويمكن للراغبين في طلبها

الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص

سورية . حمص . جامعة حمص . الإدارة المركزية . ص . ب (77)

. هاتف / فاكس : ++ 963 31 2138071

. موقع الإنترنت : www.homs-univ.edu.sy

. البريد الإلكتروني : journal.homs-univ.edu.sy

ISSN: 1022-467X

شروط النشر في مجلة جامعة حمص

الأوراق المطلوبة:

- 2 نسخة ورقية من البحث بدون اسم الباحث / الكلية / الجامعة) + CD / word من البحث منسق حسب شروط المجلة.
 - طابع بحث علمي + طابع نقابة معلمين.
 - إذا كان الباحث طالب دراسات عليا:
يجب إرفاق قرار تسجيل الدكتوراه / ماجستير + كتاب من الدكتور المشرف بموافقة على النشر في المجلة.
 - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية:
يجب إرفاق قرار المجلس المختص بإنجاز البحث أو قرار قسم بالموافقة على اعتماده حسب الحال.
 - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية من خارج جامعة البعث :
يجب إحضار كتاب من عمادة كليته تثبت أنه عضو بالهيئة التدريسية و على رأس عمله حتى تاريخه.
 - إذا كان الباحث عضواً في الهيئة الفنية :
يجب إرفاق كتاب يحدد فيه مكان و زمان إجراء البحث ، وما يثبت صفته وأنه على رأس عمله.
 - يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (العلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية):
عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1- مقدمة
 - 2- هدف البحث
 - 3- مواد وطرق البحث
 - 4- النتائج ومناقشتها .
 - 5- الاستنتاجات والتوصيات .
 - 6- المراجع.

- يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (الآداب - الاقتصاد - التربية - الحقوق - السياحة - التربية الموسيقية وجميع العلوم الإنسانية):
- عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1. مقدمة.
- 2. مشكلة البحث وأهميته والجديد فيه.
- 3. أهداف البحث و أسئلته.
- 4. فرضيات البحث و حدوده.
- 5. مصطلحات البحث و تعريفاته الإجرائية.
- 6. الإطار النظري و الدراسات السابقة.
- 7. منهج البحث و إجراءاته.
- 8. عرض البحث و المناقشة والتحليل
- 9. نتائج البحث.
- 10. مقترحات البحث إن وجدت.
- 11. قائمة المصادر والمراجع.
- 7- يجب اعتماد الإعدادات الآتية أثناء طباعة البحث على الكمبيوتر:
 - أ- قياس الورق 25×17.5 B5.
 - ب- هوامش الصفحة: أعلى 2.54- أسفل 2.54 - يمين 2.5- يسار 2.5 سم
 - ت- رأس الصفحة 1.6 / تذييل الصفحة 1.8
 - ث- نوع الخط وقياسه: العنوان . Monotype Koufi قياس 20
- كتابة النص Simplified Arabic قياس 13 عادي - العناوين الفرعية Simplified Arabic قياس 13 عريض.
- ج. يجب مراعاة أن يكون قياس الصور والجداول المدرجة في البحث لا يتعدى 12سم.
- 8- في حال عدم إجراء البحث وفقاً لما ورد أعلاه من إشارات فإن البحث سيهمل ولا يرد البحث إلى صاحبه.
- 9- تقديم أي بحث للنشر في المجلة يدل ضمناً على عدم نشره في أي مكان آخر، وفي حال قبول البحث للنشر في مجلة جامعة البعث يجب عدم نشره في أي مجلة أخرى.

10- الناشر غير مسؤول عن محتوى ما ينشر من مادة الموضوعات التي تنشر في المجلة
11- تكتب المراجع ضمن النص على الشكل التالي: [1] ثم رقم الصفحة ويفضل استخدام التهميش الإلكتروني المعمول به في نظام ورد WORD حيث يشير الرقم إلى رقم المرجع الوارد في قائمة المراجع.

تكتب جميع المراجع باللغة الانكليزية (الأحرف الرومانية) وفق التالي:

آ . إذا كان المرجع أجنبياً:

الكنية بالأحرف الكبيرة - الحرف الأول من الاسم تتبعه فاصلة - سنة النشر - وتتبعها معترضة (-) عنوان الكتاب ويوضع تحته خط وتتبعه نقطة - دار النشر وتتبعها فاصلة - الطبعة (ثانية . ثالثة) . بلد النشر وتتبعها فاصلة . عدد صفحات الكتاب وتتبعها نقطة .
وفيما يلي مثال على ذلك:

-MAVRODEANUS, R1986- Flame Spectroscopy. Willy, New York, 373p.

ب . إذا كان المرجع بحثاً منشوراً في مجلة باللغة الأجنبية:

— بعد الكنية والاسم وسنة النشر يضاف عنوان البحث وتتبعه فاصلة، اسم المجلد ويوضع تحته خط وتتبعه فاصلة — المجلد والعدد (كتابة مختزلة) وبعدها فاصلة — أرقام الصفحات الخاصة بالبحث ضمن المجلة.
مثال على ذلك:

BUSSE,E 1980 Organic Brain Diseases Clinical Psychiatry News , Vol. 4. 20 – 60

ج . إذا كان المرجع أو البحث منشوراً باللغة العربية فيجب تحويله إلى اللغة الإنكليزية و التقيد بالبنود (أ و ب) ويكتب في نهاية المراجع العربية: (المراجع In Arabic)

رسوم النشر في مجلة جامعة حمص

1. دفع رسم نشر (50000) ل.س أربعون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.
2. دفع رسم نشر (200000) ل.س مئة ألف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .
3. دفع رسم نشر (200) مننًا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .
4. دفع مبلغ (15000) ل.س ستة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.

المحتوى

الصفحة	اسم الباحث	اسم البحث
32-11	د. علا مصطفى د. أمين سويد د. شادي خطيب	تحضير ودراسة خصائص صيغة طينية طبيعية وتقييم فعاليتها في علاج الليشمانيا الجلدية
66-33	تيماء محمد سلامه أ.م.د. يوسف الأحمد د. أمين سويد	دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة
88-67	عاصم الباكير د. ماهر صالح د. أشرف الصالح	دراسة تأثير الإصابة بالإشريكية القولونية على بروتينات الطور الحاد عند الأرانب
120-89	أحمد حامد أ.د. حسان فرح	تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدهام القواطع السفلية المعالجة بالرافعات الشفافة

تحضير ودراسة خصائص صيغة طينية طبيعية طبخية وتقييم فعاليتها في علاج الليشمانيا الجلدية

- د. علا مصطفى: مدرس في قسم الأدوية والسموم، كلية الصيدلة، جامعة حمص
د. أمين سويد: مدرس في قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية، كلية الصيدلة، جامعة حمص
د. شادي خطيب: مدرس في قسم العقاقير والنباتات الطبية، كلية الصيدلة، جامعة المنارة

الملخص

تُعد الليشمانيا الجلدية مشكلة صحية متفاقمة في سورية، خصوصاً في محافظة حلب التي تُعد بؤرة راسخة للمرض. ومع محدودية فعالية العلاجات الدوائية التقليدية وارتفاع سميتها وتكاليفها، تبرز الحاجة إلى ابتكار مستحضرات موضعية آمنة وفعالة تعتمد على مصادر طبيعية محلية. تم في هذا البحث اختيار مزيج من الخلاصات الطبيعية المعروفة بفعاليتها في حالات الليشمانيا الجلدية، شملت خلاصة الألويفرا، خلاصة قشور الفستق الحلبي، وخلاصة عكبر النحل. جرى دمج هذه الخلاصات بشكل مستحلب ضمن صيغة طينية موضعية تركز على طين البيلون الحلبي المعروف بخصائصه المجففة بسبب قدرته الامتصاصية العالية، مع تعزيزها بمركب ملح الجبول ذي الفعالية المطهرة، بالإضافة إلى أكسيد الزنك الذي يساهم في التحفيف وتخفيف التهيج والالتهاب، كما تم استخدام زيت الزيتون وزيت الخروع بسبب قدرتها المرطبة وتأثيرها المخفف لتهيج الجلد. شملت هذه الدراسة تقييم الخصائص الفيزيوكيميائية للصيغة المحضرة من حيث القوام، التجانس، نمط المستحلب، الامتداد، درجة الحموضة والثبات، بالإضافة إلى تقييم فعاليتها على أحد عشر مريضاً منطوعاً يعانون من ليشمانيا جلدية مقاومة للعلاج الدوائي التقليدي وذلك بعد استخدامهم دواء ميغلويمين أنتيمونيوات وفق البروتوكولات المعتمدة. أظهرت النتائج أن الصيغة الطينية الطبيعية المطورة تتمتع بخصائص فيزيوكيميائية مناسبة، وتمتلك فعالية جيدة حيث أبدت تحسناً واضحاً لدى المرضى تجلى بانخفاض حجم الآفات وتراجع الالتهاب وتقليل الإفرازات، وذلك بعد أربعة أسابيع من التطبيق دون تسجيل آثار جانبية تُذكر.

تشير هذه النتائج إلى أن الصيغة المطورة تمثل خياراً مساعداً واعداً في معالجة حالات الليشمانيا الجلدية.

الكلمات المفتاحية: الليشمانيا الجلدية، صيغة طينية طبيعية، طين البيلون الحلبي، ملح الجبول، الألويفرا، الفستق الحلبي، عكبر النحل.

Preparation, Characterization and Evaluation of a Natural Clay– Based Formulation for Cutaneous Leishmaniasis Therapy

Abstract

Cutaneous Leishmaniasis represents an increasingly significant health challenge in Syria, particularly in Aleppo Governorate, which remains a well-established endemic focus. Due to the limited efficacy, high toxicity, and considerable cost of conventional drug treatments, there is a growing need to develop safe and effective topical formulations derived from local natural sources.

In this research, a combination of natural components, previously investigated for their activity against cutaneous Leishmaniasis, was selected, including Aloe vera extract, pistachio peel extract, and bee propolis extract. These extracts were incorporated as an emulsion into a topical clay formulation based on pure Aleppo “biloun” clay, known for its drying and high absorption properties. The formulation was further supported by Jabboul salt, valued for its antiseptic effects, as well as zinc oxide, which contributes to dry and reduce irritation and infection. Olive oil and castor oil were also used because of their moisturizing properties and their soothing effect on skin irritation. This study included an evaluation of the physicochemical properties of the prepared formulation such as texture, homogeneity, emulsion type, distribution, pH and stability,

followed by an assessment of its efficacy on eleven volunteer patients suffering from cutaneous Leishmaniasis unresponsive to conventional chemotherapy, after receiving meglumine antimoniate according to standard protocols.

The results demonstrated that the developed natural clay-based formulation has suitable physicochemical properties and remarkable improvement in patients, reflected by a reduction in lesion size, decreased inflammation, and diminished exudates, after four weeks of application with no notable side effects. These findings indicate that the developed formulation is a promising adjunctive option in the treatment of cutaneous Leishmaniasis.

Key words: Cutaneous Leishmaniasis, natural clay-based formulation, Aleppo biloun clay, Jabboul salt, Aloe vera, pistachio peel, bee propolis.

1- مقدمة

يُعد داء الليشمانيات (Leishmaniasis) من الأمراض الطفيلية المنتشرة عالمياً، وتشير تقارير منظمة الصحة العالمية إلى أن أكثر من 80% من سكان العالم يعتمدون على الطب التقليدي في تدبير مثل هذه الأمراض، تُعد منطقة شرق المتوسط من أكثر المناطق الموبوءة بالليشمانيا الجلدية، ويعتبر هذا الشكل من داء الليشمانيات الأكثر شيوعاً، وينتقل عبر لسعة أنثى ذبابة الرمل (sandfly) الحاملة للطفيلي، مسبباً آفات جلدية تتمثل في التقرحات على الأجزاء الظاهرة من الجسم والتي غالباً ما تترك ندوباً دائمة [1،2]. يُسجل في سورية انتشار مرتفع للمرض، خاصة في محافظة حلب، التي ارتبط اسمها تاريخياً بما يُعرف بـ "حبة حلب" [3]. وحتى الآن، لا يوجد لقاح فعال للوقاية من داء الليشمانيات [4]، ولكن يمكن الحد من انتشاره من خلال التدابير الوقائية لتجنب لسعات ذباب الرمل [5].

رغم توفر علاجات دوائية معتمدة، إلا أن فعاليتها محدودة بسبب مقاومة الطفيليات لها، بالإضافة إلى سميتها المحتملة للكبد والقلب، وطول مدة العلاج وتكلفته العالية [6]. لذلك، تزداد أهمية البحث عن مستحضرات طبيعية تتميز بالأمان والفعالية ومتوفرة محلياً، وقد أثبتت المستخلصات الطبيعية، سواء النباتية أو المعدنية، دوراً بارزاً في مكافحة الطفيليات حيث استخدمت لعقود كمصادر علاجية منخفضة التكلفة [7].

أظهرت أبحاث سابقة فعالية خلاصة صبار الألويفرا (Aloe vera) في العلاج الداعم لليشمانيا الجلدية خصوصاً في الحالات المقاومة أو التي تعاني آثاراً جانبية من العلاجات التقليدية، حيث لوحظ تحسن واضح في الآفات الجلدية وتسريع زمن الشفاء دون سمية كبدية أو كلوية [8-11]. بالإضافة إلى ذلك، أثبتت الدراسات فعالية استخدام خلاصة أوراق وقشور وصمغ الفستق الحلبي (pistachio peel) [12-14]، وكذلك عكبر النحل (bee propolis) كعلاج مساعد لليشمانيا الجلدية [15، 16].

يعتبر طين البيلون الحلبي (Aleppo biloun clay) من الموارد الطبيعية السورية غير المستغلة طبيًا، على الرغم من غناه بالمعادن وخصائصه الامتصاصية والملطفة للبشرة [17]. كما يُعد ملح الجبول (Jabboul salt)، المستخرج من بحيرة الجبول جنوب شرق حلب والغني بكلوريد الصوديوم، موردًا محليًا مهمًا لم يستثمر طبيًا مقارنة بملح البحر الميت، رغم امتلاكه خواصًا قد تفيد الصيغ الموضعية [18]. إضافة إلى ذلك، يساهم أكسيد الزنك (zinc oxide) في الحد من الالتهاب وتجفيف الآفات الطفيلية [19].

ومن المركبات المهمة التي يمكن استخدامها في الصيغ الموضعية بعض أنواع الزيوت النباتية مثل زيت الزيتون (olive oil) وزيت الخروع (castor oil) كناقل طبيعي للمستخلصات أو المكونات الفعالة مع ترطيب الجلد وتقليل احتمال تهيجه [20].

انطلاقًا من هذه المعطيات، يهدف هذا البحث إلى تطوير صيغة طينية موضعية تعتمد على الموارد الطبيعية المحلية، دراسة خصائصها الفيزيوكيميائية، وتقييم فعاليتها في حالات الليشمانيا الجلدية المقاومة للعلاج التقليدي.

2- المواد والطرائق

2-1- المواد والأجهزة والأدوات

2-1-1- المواد

طين البيلون الحلبي النقي (حلب، سورية)، ملح جبولي (سبخة الجبول، حلب، سورية)، زيت الزيتون (ريف ادلب، سورية)، قشور الفستق الحلبي (مورك، ريف حماه، سورية)، الألوفيرا (السويداء، سورية)، عكبر النحل (مصيف، سورية)، غليسيرين وصمغ الزانتان تم شراؤها من شركة (DSM Sinochem, India)، أكسيد الزنك ويوتاسيوم سوريات تم شراؤها من شركة (Titan Biotech, India)، زيت الخروع تم شراؤه من شركة (TNN development LTD, China)، ماء مقطر تم الحصول عليه من جهاز التقطير (صناعة سورية).

2-1-2- الأجهزة والأدوات

مبخر دوار (Rotary Vacuum Evaporator (STUART)، مقياس درجة الحموضة (Sartorius Stedim Biotech, Germany)، مطحنة مخبرية، حمام مائي، ميزان حرارة، خلاط عالي القص (DI 18 basic, ultra turrax, Germany)، بيشر، سلندر، أرلينة، ميزان حساس (Precisa Laboratory prime XB220A).

2-2- الطرائق

2-2-1- تحضير خلاصة الألويفرا

يتم اختيار الأوراق السفلية الناضجة والسليمة، تغسل بعناية، تقطع قاعدة الأوراق وتوضع في وضعية عمودية لمدة 20-30 دقيقة للسماح بتصفية اللاتكس الأصفر الذي يحتوي على مركب الألوين المهيج للجلد. بعد إزالة اللاتكس، يعاد غسل الأوراق جيداً، ثم يتم إزالة الحواف الشوكية والجانبية باستخدام أداة حادة، تليها شق الورقة طولياً للوصول إلى الهلام الشفاف الداخلي. يكشف الهلام بحرص باستخدام سكين ثم يضاف الإيثانول 70% بنسبة 1:3 (هلام: مذيب)، يتم التحريك لمدة 30-60 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة، يرشح المزيج ثم تركز الخلاصة باستخدام مبخر دوار تحت ضغط منخفض وعند درجة حرارة لا تتجاوز 40 درجة مئوية، للحصول على خلاصة لزجة جاهزة للاستخدام [21، 22].

2-2-2- تحضير خلاصة قشور الفستق الحلبي

تجمع القشور الخارجية الطرية للفستق الحلبي، تغسل بعناية، ثم تجفف في فرن عند درجة حرارة 40-45 درجة مئوية حتى تصل نسبة الرطوبة إلى أقل أو يساوي 10%، تطحن بعدها القشور الجافة بمطحنة مخبرية للحصول على مسحوق خشن. يتم الاستخلاص بطريقة التعطين باستخدام مذيب الإيثانول 70% وفق الخطوات التالية:
يوضع المسحوق في وعاء زجاجي محكم الإغلاق مع المذيب بنسبة 1:10 (مسحوق: مذيب)،

يرج الوعاء بشكل دوري (3-4 مرات يومياً) عند درجة حرارة الغرفة، يترك المزيج لمدة 24-48 ساعة، يرشح بعدها للتخلص من البقية الصلبة ثم تركز الخلاصة باستخدام مبخر دوار تحت ضغط منخفض وعند درجة حرارة لا تتجاوز 40 درجة مئوية، للحصول على خلاصة لزجة جاهزة للاستخدام [12].

2-2-3- تحضير خلاصة عكبر النحل

يجمع العكبر الخام مباشرة من خلايا النحل الشمعية، ثم يوضع في البراد عدة ساعات من أجل رفع القوام وتسهيل الطحن باستخدام مطحنة مخبرية للحصول على مسحوق خشن. يتم الاستخلاص بطريقة التعطين باستخدام مذيب الإيثانول 70% وفق الخطوات التالية:
يوضع المسحوق في وعاء زجاجي محكم الإغلاق، ثم يضاف المذيب بنسبة 1: 10 (مسحوق: مذيب)، يغلق الوعاء ويوضع في مكان مظلم عند درجة حرارة الغرفة، يرشح الوعاء بشكل دوري (3-4 مرات يومياً) لمدة 7 أيام. يرشح المزيج للحصول على خلاصة بلون بني داكن إلى أحمر جاهزة للاستخدام [23، 24].

2-2-4- تحضير الصيغة الطينية الطبيعية

إن الصيغة المطورة هي عبارة عن معجون مائي بشكل مستحلب نمط ز/م يحوي نسبة مرتفعة من الطين. تم اختيار المكونات الموضحة في الجدول 1 من أجل تحضير 100غ من الصيغة.

جدول 1: مكونات الصيغة الطينية الطبيعية

المكون	الكمية %
طين البيلون الحلبى النقي	40%
ملح جبولى	3%
خلاصة قشور الفستق الحلبى	3.8%
خلاصة عكبر النحل	2%
خلاصة الأوفيرا	3%
زيت الزيتون	5%

4%	زيت الخروع
2%	أكسيد الزنك
1%	صمغ الزانتان
8%	غليسيرين
0.2%	بوتاسيوم سوربات
28%	ماء مقطر

أ- تحضير الطور المائي: تضاف خلاصات الألويفيرا وقشور الفستق الحلبي وعكبر النحل تدريجياً إلى الماء المقطر وتحرك جيداً، ثم يضاف ملح الجبول، سوربات الصوديوم، الغليسيرين و صمغ الزانتان مع المزج حتى تمام الانحلال.

ب- تحضير الطور الطيني الزيتي: يمزج طين البيلون مع أكسيد الزنك وزيت الزيتون وزيت الخروع بشكل جيد حتى تشكل عجينة ناعمة.

ج- استحلاب الطور المائي مع الطور الطيني الزيتي: يضاف الطور الطيني الزيتي تدريجياً إلى الطور المائي ضمن حمام مائي بدرجة حرارة 40°م، مع تحريك عالي القص حتى الحصول على مستحلب زيت في ماء (ز/م). يبرد المحضر مع استمرار التحريك ويترك للراحة حتى الحصول على القوام نصف الصلب المناسب ثم يعبأ ضمن عبوات بلاستيكية نظيفة.

2-2-5- دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية للصيغة الطينية الطبيعية

من أجل التأكد من مطابقة الصيغة المحضرة للمواصفات المطلوبة تم تطبيق الاختبارات التالية عليها، علماً أن كل اختبار أجري على ثلاث عينات.

2-2-5-1- الاختبار الحسي

يتم من خلال فحص المحضر عياناً وذلك بمراقبة اللون، الرائحة، التجانس والقوام.

2-2-5-2- تحديد نمط المستحلب

استخدمت طريقة التمديد من أجل تحديد نمط المستحلب المحضر، حيث تضاف إليه بضع قطرات من الماء، إن امتزاج الماء مع المستحلب المفحوص يعني أن طوره الخارجي مائي وبالتالي نمطه ز/م، أما إذا انفصل الماء المضاف، فهذا يعني أن الطور الخارجي للمستحلب هو الزيت ونمطه م/ز.

2-2-5-3- اختبار الامتداد

أجري مد المحضر يدوياً على الجلد ومراقبة مدى توزعه وسهولة تطبيقه.

2-2-5-4- تحديد درجة الحموضة (pH)

يجرى الفحص باستخدام جهاز مقياس الحموضة pH meter، يجب أن تكون قيمة pH المحضر قريبة من قيمة pH الجلد وهي 5.5 لكي يكون المحضر جيد التحمل من قبل الجلد.

2-2-5-5- اختبار الثبات

تم مراقبة ثباتية المحضر على الرف ومقاومته للتخرب لمدة ثلاثة شهور، وذلك ضمن الشروط الطبيعية من درجة الحرارة والرطوبة.

2-2-6- تقييم فعالية الصيغة الطينية الطبيعية في علاج الليشمانيا الجلدية

تم تقييم فعالية الصيغة المطورة على مرضى متطوعين مصابين بالليشمانيا الجلدية وغير مستجيبين للعلاج الدوائي التقليدي، حيث أنها المعالجة بدواء ميغلومين أنتيمونييات (meglumine antimoniate) بمقدار 8 حقن على الأقل ولا تزال هناك آثار للإصابة. بلغ عدد المرضى 11 مريض من الجنسين، تراوحت أعمارهم بين 22 و68 سنة. وقع كل المتطوعين على الموافقة

بتطبيق الصيغة المطورة عليهم كعلاج داعم للعلاج الدوائي، والسماح باستخدام الصور لغرض البحث العلمي.

تم تطبيق الصيغة المطورة على الآفة التي تسببها الليشمانيا الجلدية مرتين يومياً لمدة 4 أسابيع، وتمت مراقبة تغير حجم الآفة، وتقييم الحالة الالتهابية (احمرار، وذمة، ألم، إفرازات، حكة، تشكّل نسيج جديد). تم التقاط صور للآفة قبل وبعد التطبيق وتسجيل الملاحظات السريرية من قبل طبيب مختص في عيادة خاصة.

3- النتائج والمناقشة

3-1- تحضير الصيغة الطينية الطبيعية

إن الصيغة المطورة هي عبارة عن معجون مائي بشكل مستحلب نمط ز/م يحوي نسبة مرتفعة من الطين. تم التحضير باستخدام الطريقة المباشرة عن طريق إضافة الطور الداخلي الزيتي إلى الطور الخارجي المائي، بوجود عامل استحلابي محب للماء هو صمغ الزانتان الذي يخفض التوتر السطحي بين الطورين المائي والزيتي ويحدد نمط المستحلب ز/م، كما أنه يساهم في رفع القوام مع طين البيلون الحلبى للحصول على القوام نصف الصلب المناسب وزيادة ثباتية المستحلب. يساعد الغليسيرين على منع جفاف الصيغة باعتباره مادة جاذبة للرطوبة، بينما يلعب سوربات الصوديوم دور مادة حافظة لمنع النمو الجرثومي والفطري أثناء التخزين والاستخدام. إن المواد الفعالة المستخدمة ضمن الصيغة لعلاج الليشمانيا الجلدية كما أسلفنا سابقاً هي طين البيلون والملح الجبولى وخلصات الأوفيرا وقشور الفستق الحلبي وعكبر النحل، بالإضافة إلى زيت الزيتون وزيت الخروع وأكسيد الزنك.

3-2- الاختبار الحسي

يساعد هذا الاختبار على إجراء تقييم أولي للصيغة المطورة وكشف أي مظهر تخرب عياني قبل إجراء بقية اختبارات المراقبة. ظهرت الصيغة المطورة بقوام طيني ولون بني وكان لها رائحة خاصة

بسبب وجود طين البيلون، وبدت متجانسة خالية من التكتلات ومن أي مظهر من مظاهر ترسب الطين أو تجمع أو انفصال أو تقشد المستحلب.

3-3- تحديد نمط المستحلب

تبين أن الصيغة المطورة قابلة للامتزاج مع الماء المضاف، مما يؤكد أن الصيغة المحضرة بشكل مستحلب لها طور خارجي مائي وبالتالي نمط المستحلب ز/م، يفسر ذلك باستخدام عامل استحلابي محب للماء هو صمغ الزانتان.

3-4- اختبار الامتداد

لوحظ عند تطبيق الصيغة المطورة على الجلد أنها سهلة المد وجيدة الالتصاق، إن استخدام زيت الزيتون وزيت الخروع والجليسيرين قد ساعد في تحقيق سهولة المد على الجلد، كما أن استعمال صمغ الزانتان قد ساهم في تحسين القدرة على الالتصاق مكان التطبيق.

3-5- تحديد درجة الحموضة (pH)

وجد أن قيمة درجة حموضة الصيغة المطورة تساوي 6 ووسطياً، وهي قيمة قريبة من درجة حموضة الجلد، وبالتالي فإن الصيغة جيدة التحمل من قبل الجلد وتناسب التطبيق الموضعي.

3-6- اختبار الثبات

بقيت الصيغة المطورة ثابتة على الرف لمدة ثلاثة شهور ضمن الشروط الطبيعية من حرارة ورطوبة دون أن تبدي أي مظهر للتخرب، فلم يشاهد أي ترسب للطين أو تجمع أو انفصال أو تقشد للمستحلب خلال هذه الفترة، يمكن تفسير ذلك باستخدام العامل الاستحلابي والمواد الرافعة للقوام التي تزيد من ثباتية الصيغة.

3-7- تقييم فعالية الصيغة الطينية الطبيعية في علاج الليشمانيا الجلدية

تبين من خلال الملاحظات السريرية على المرضى انخفاض في حجم الآفة، يمكن تفسير ذلك نتيجة امتصاص طين البيلون للسوائل [17]، وتفاعل ملح الجبول مع البيئة الطفيلية [18]، وتقليل

الالتهاب بفضل خلاصات الألوفيرا وقشور الفستق الحلبي وعكبر النحل [9،12،15]، بالإضافة إلى تجفيف الآفة بفعل أكسيد الزنك [19]، وتخفيف التهيج من قبل زيت الزيتون وزيت الخروع [20]، الأمر الذي يساعد في تشكل نسيج الترميم وتحسن في حالة الآفة الجلدية. تم تلخيص نتائج تطبيق الصيغة المطورة على المرضى بعد 4 أسابيع ضمن الجدول 2.

الجدول 2: نتائج تطبيق الصيغة الطينية الطبيعية على المرضى

رقم الحالة	المريض	مكان الإصابة ومواصفاتها	النتيجة الملاحظة
1	أنثى عمر 38 سنة	القدم اليسرى، آفة مفتوحة	تحسن ملحوظ وأصبح مكان الآفة مغلق
2	أنثى عمر 27 سنة	اليد اليمنى، آفة مغلقة مع وذمة	تقلص حجم الإصابة وانحسار الوذمة
3	أنثى عمر 42 سنة	القدم اليمنى، آفة مفتوحة	تحسن ملحوظ وأصبح مكان الآفة مغلق
4	ذكر عمر 29 سنة	اليد اليمنى، آفة مفتوحة	تحسن ملحوظ وأصبح مكان الآفة مغلق
5	أنثى عمر 22 سنة	القدم اليسرى، آفة مفتوحة	تحسن ملحوظ وأصبح مكان الآفة مغلق
6	ذكر عمر 49 سنة	اليد اليسرى، آفة مفتوحة	تحسن ملحوظ وأصبح مكان الآفة مغلق
7	أنثى عمر 44 سنة	اليد اليمنى، آفة مغلقة مع وذمة	تقلص حجم الإصابة وانحسار الوذمة
8	أنثى عمر 29 سنة	اليد اليمنى، آفة مغلقة مع وذمة	تقلص حجم الإصابة وانحسار الوذمة
9	أنثى عمر 41 سنة	اليد اليمنى، آفة مغلقة مع وذمة	تقلص حجم الإصابة وانحسار الوذمة

تحسن ملحوظ وأصبح مكان الآفة مغلق	اليد اليمنى، آفة مفتوحة	أنثى عمر 63 سنة	10
تقلص حجم الإصابة وانحسار الوذمة	اليد اليسرى، آفة مغلقة مع وذمة	ذكر عمر 68 سنة	11

تبيين الأشكال (1-11) نتائج الملاحظات السريرية على المرضى.



الشكل 1: الحالة رقم 1



الشكل 2: الحالة رقم 2



الشكل 3: الحالة رقم 3



الشكل 4: الحالة رقم 4



الشكل 5: الحالة رقم 5



الشكل 6: الحالة رقم 6



الشكل 7: الحالة رقم 7



الشكل 8: الحالة رقم 8



الشكل 9: الحالة رقم 9



الشكل 10: الحالة رقم 10



الشكل 11: الحالة رقم 11

4- الاستنتاجات والتوصيات

تم تطوير صيغة طينية موضعية مبتكرة تعتمد على الموارد الطبيعية المحلية المتاحة، مكونة بشكل أساسي من طين البيلون الحليبي مع ملح الجبول وأكسيد الزنك، مدعمة بخلصات طبيعية للألوفيرا وقشور الفستق الحليبي وعكبر النحل بالإضافة إلى زيوت نباتية هي زيت الزيتون والخروع. تتمتع هذه الصيغة بخصائص فيزيوكيميائية مناسبة من حيث القوام، التجانس، الامتداد، درجة الحموضة والثبات، وتقدم حلاً علاجية دامة وواعدة في تدبير الليشمانيا الجلدية، حيث تساهم في تراجع حجم الآفة، تقليل الالتهاب، تجفيف الإفرازات، وتحفيز عملية الترميم الجلدي دون آثار جانبية تذكر.

يُوصى بإجراء دراسات مستقبلية موسعة تشمل عدد أكبر من المرضى، بالمقارنة مع العلاجات المعيارية، لتأكيد فعالية وأمان الصيغة المطورة.

5- المراجع

- 1- https://www.emro.who.int/ar/entity/zoonoses/?utm_source=chatgpt.com.
- 2- <https://www.who.int/ar/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.
- 3- Da'aboul M., Cutaneous leishmaniasis in Damascus, La Revue de Santé de la Méditerranée orientale, Vol. 15, No. 5, 2009.
- 4- <http://www.emro.who.int>, Neglected tropical diseases, Cutaneous leishmaniasis factsheet.
- 5- Stockdale Lisa, Robert Newton, A review of preventative methods against human leishmaniasis infection. Neglected tropical diseases, Vol. 7, Issue 6, 2013.
- 6- Dastgheib L; Naseri M and Mirashe Z, Both combined oral azithromycin plus allopurinol and intramuscular glucantime yield low efficacy in the treatment of old world cutaneous leishmaniasis: arandomized controlled clinical trial. Int. J. Dermatol., Vol. 51, Issue 12, p.1508-1511, 2012.
- 7- Behrouz E; et al; In Vitro and In Vivo Antileishmanial Effects of Pistacia khinjuk against Leishmaniatropica and Leishmania major, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2015.
- 8- Dutta, Avijit, et al. "In vitro antileishmanial activity of Aloe vera leaf exudate: a potential herbal therapy in leishmaniasis." Glycoconjugate Journal, Vol. 24, p. 81-86, 2007.

- 9- Dalimi, Abdolhossein, et al. "In vitro and in vivo antileishmanial effects of aloe-emodin on *Leishmania major*." *Journal of traditional and complementary medicine*, Vol. 5, No. 2, p. 96-99, 2015.
- 10- Samadovna, Sharopova Gulnoza. "Anti-Leishmanial Activity of Aloe Vera Leaf Exudate in Vivo." *Central Asian Journal of Medical and Natural Science*, Vol. 3, No. 6, p. 79-83, 2022.
- 11- Aghaei, Maryam, et al. "The Therapeutic Effect of Shirvan Herbal Ointment on Human Cutaneous Leishmaniasis Compared with Glucantime." *Advanced Biomedical Research*, Vol. 13, No. 74, 2024.
- 12- Khatib, C., Al-Shammā^c, I., & Netouf, A. H., Evaluation of *Pistacia vera* L. efficacy (Syrian traditional medicine) as adjuvant treatment for Cutaneous Leishmaniasis. *Arab Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 6, No. 2, 2019.
- 13- Bozorgi M; , Memariani Z; Mobli M; Surmaghi M; Shams-Ardekani M; and Rahimi R, Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology, *The Scientific World Journal*, Volume 2013.
- 14- Orhan I, Aslan M, Sener B, Kaiser M, Tasdemir D. In-vitro antiprotozoal activity of the lipophilic extracts of different parts of Turkish *Pistaciavera* L. *Phytomedicine*, Vol. 13, p.735-739, 2006.
- 15- Pontin, Karina, et al. "In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract." *Parasitology Research*, Vol. 103, No.3, p.487-492, 2008.

- 16- Cavalcante, Giani Maria, et al. "Leismanicidal activity of propolis collected in the semiarid region of Brazil." *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 12, 2021.
- 17- St George Galina, *How Clays Work: Science and Applications of Clays and Clay-Like Minerals in Health and Beauty*, Vol. 1, 2021.
- 18- Di paolo, silvana, *Salt Landscapes in Archaeological Research and Travel Accounts: The Jabbūl Lake and Other Salt Sources (Syria)*. In S. Di Paolo (Ed.), *Perspectives on 'Travel' in Ancient Mediterranean: The Multi-Sensory Approach to Archaeological Sites, Monuments and Artefacts from Medieval to Contemporary Ages*, p. 1-25, 2020.
- 19- YM Al-Gazwini, RH Hddawee, *Use of zinc oxide nanoparticles added to Aloe vera oil to treat skin leishmaniasis disease, biochemical & cellular archives*, Vol. 20, No.2, p. 3275-3280, 2020.
- 20- Amra K, Momin M, Desai N, Khan F. *Therapeutic benefits of natural oils along with permeation enhancing activity. Int J Dermatol*. Vol. 61 No. 4, p. 484-507, 2022.
- 21- International Aloe Science Council (IASC). *Aloe Processing Guidelines. IASC Technical Manual. Available on: <https://www.iasc.org/>*.
- 22- Surjushe, Amar, Resham Vasani, and DG19882025 Saple. "Aloe vera: a short review." *Indian journal of dermatology*, Vol. 53, No. 4, p. 163-166, 2008.

- 23– Bankova, Vassya, Boryana Trusheva, and Milena Popova.
"Propolis extraction methods: A review." Journal of apicultural research, Vol. 60, No. 5, p. 734–743, 2021.
- 24– Wyan, Lyric O., J. Charland, and Elmer–Rico E. Mojica.
"Comparative study of the extraction methods for the instrumental analysis of bee propolis. Undergraduate Journal of Teaching and Research." Louisiana State University of Alexandria undergraduate journal of teaching research, 2021.

دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة

إعداد الطالبة : إشراف : المشرف المشارك:
تيماء محمد سلامه أ.م.د. يوسف الأحمد د. أمين سويد

المخلص:

تقدم المملكة النباتية نباتاتها الطبية المتنوعة فوائد علاجية وتجميلية بديلة وآمنة وأكثر قبولاً لدى المرضى، منها الوقاية من الأشعة الشمسية الضارة التي تتم الحماية منها صيدلانياً باستخدام واقيات شمسية فيزيائية أو كيميائية أو الاثنين معاً.

تواجه الواقيات الشمسية الفيزيائية تحديات بسبب الطبقة البيضاء المتشكلة على البشرة بعد تطبيقها، بينما تثير الواقيات الشمسية الكيميائية جدلاً حول أمان استخدامها على المدى الطويل، الأمر الذي وجّه النظر للمستخلصات النباتية ذات القدرة الواقية الشمسية كبديل آمن واقتصادي.

يحتل استخدام إكليل الجبل في الوقت الحالي أهمية كبيرة في الصناعات التجميلية، بسبب انتشاره الواسع في سوريا وفوائده العديدة.

تم في هذا البحث تحضير ثمانية مستخلصات من أوراق إكليل الجبل الجافة بطريقتي استخلاص، الأولى هي طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية، والثانية هي طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالرجاج الكهربائي، وباستخدام أربع أنواع من المذيبات هي الميثانول المطلق، الإيثانول المطلق، الماء المقطر، الأيثانول المطلق + الماء المقطر بنسبة 1:1 وذلك في درجة حرارة الغرفة. تم تكرار التجربة ثلاثة مرات متتالية.

تم أولاً تحديد مردود الاستخلاص لكل طريقة والمذيب المستخدم، ثم الكشف الكيفي عن الفلافونويدات، وحددت الكمية الكلية للمادة الفينولية في الخلاصات وفق طريقة Folin – Denis بالاعتماد على السلسلة العيارية المحضرة من حمض الغاليك وباستخدام جهاز السبيكتروفوتوميتر، وأخيراً حساب عامل الحماية الشمسي.

بينت النتائج أن طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالأموح فوق الصوتية هي الأعلى مردوداً مقارنةً بطريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالرجاج الكهربائي وذلك عند استخدام نفس المذيب، أما من حيث المذيبات فإن مستخلص الإيتانول المطلق هو الأعلى مردوداً عند الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالأموح فوق الصوتية ومستخلص الإيتانول مع الماء المقطر هو الأعلى مردوداً عند الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالرجاج الكهربائي. في حين تتفاوت قيمة عامل الحماية الشمسي بين أنواع المذيبات وفق الآتي: الماء المقطر مع الإيتانول يعطي القيمة الأعلى يليه الميثانول المطلق ثم الماء المقطر وأخيراً الإيتانول المطلق.

تم العمل على الخلاصة الايتانولية حيث سجلت نتائج إيجابية عند الكشف عن الفلافونويدات، في حين بلغت كمية الفينول الكلية

85,25g مكافئ حمض الغاليك / 1 kg خلاصة جافة، 21,29g مكافئ حمض الغاليك / 1kg نبات جاف.

الكلمات المفتاحية :

عامل الحماية الشمسي - واقيات شمسية - الاستخلاص - إكليل الجبل - مذيبات - مستخلصات خضراء

Study of the sun-protective capacity of rosemary leaf extracts prepared using different extraction methods and solvents

Abstract

The plant kingdom, with its diverse medicinal plants, offers alternative, safe, and more acceptable therapeutic and cosmetic benefits for patients, including protection from harmful solar radiation, which is protected pharmacologically using physical or chemical sunscreens, or both.

Physical sunscreens face challenges due to the white film that forms on the skin after application, while chemical sunscreens raise controversy about their long-term safety, which has led to attention being given to plant extracts with sun-protective properties as a safe and economical alternative.

The use of rosemary is currently of great importance in the cosmetics industry due to its widespread use in Syria and its numerous benefits.

In this research, eight extracts were prepared from dried rosemary leaves using two extraction methods. The first method was extraction by denaturation followed by ultrasonication, and the second was extraction by denaturation followed by electroshock. Four solvents were used: absolute methanol, absolute ethanol, distilled water, and absolute ethanol + distilled water in a 1:1 ratio, all at room temperature. The experiment was repeated three times consecutively.

First, the extraction yield for each method and the solvent used was determined; then the flavonoids were qualitatively detected, and the total amount of phenolic material in the extracts was determined according to the Folin-Denis method based on the standard series prepared from gallic acid and using a spectrophotometer; and finally, the solar protection factor was calculated.

The results showed that the ultrasonic necrosis extraction method yielded the highest efficiency compared to the electro-shaking necrosis method when using the same solvent. Regarding the solvents themselves, absolute ethanol extract yielded the highest efficiency when using the ultrasonic necrosis method, while ethanol extract with distilled water yielded the highest efficiency when using the electro-shaking method. The SPF value varied among the solvent types as follows: distilled water with ethanol yielded the highest value, followed by absolute ethanol, then distilled water, and finally absolute ethanol.

The ethanolic extract was worked on, and positive results were recorded when detecting flavonoids, while the total amount of phenols amounted to 85.25 g gallic acid equivalent/1 kg dry extract and 21.29 g gallic acid equivalent/1 kg dry plant.

Keywords:

Sun Protection Factor, sunscreens, extraction, rosemary, solvents, green extracts.

1- المقدمة

يعد الجلد العضو الأكبر مساحةً في جسم الإنسان حيث يغطي 1.7 متر مربع من الجسم. يصنف الجلد من طرق إيتاء الدواء الموضعية فضلاً عن دوره كمنظم لحرارة الجسم، ويعتبر خط الدفاع الأول ضدّ العديد من العوامل البيئية كالغبار والكائنات الدقيقة والضوء وأشعة الشمس [1,2].

يتكون ضوء الشمس بشكل رئيسي من الأشعة تحت الحمراء IR والأشعة المرئية، والأشعة فوق البنفسجية (UVA, UVB, UVC) [3]. تعتبر الأشعة الشمسية مصدر الطاقة للإنسان والأرض، حيث يتحرض تشكيل فيتامين D ابتداءً من دي هيدروكسي كولي كالسيفيرول المتوضع في البشرة

مما يساهم في الوقاية من لين العظام عند التعرض لهذه الأشعة، وتساهم بتخفيض ضغط الدم عن طريق إنتاج أكسيد النترت NO وتحسين الحالة المزاجية عن طريق تحريض إفراز الأندروفينات، فضلاً عن دورها كمضاد بكتيريا[1]. وتستخدم هذه الأشعة طبيياً لتعزيز فعالية الأدوية الجلدية الموضعية المستخدمة في علاج الأكزيما والصدفية والبهاق [2,4].

بالمقابل يسبب التعرض المزمن وغير المحمي للأشعة فوق البنفسجية أضراراً جمةً حيث تعتبر مسؤولة عن تلف الجلد [5,6,7] والسمية الضوئية وحروق الشمس والشيخوخة الضوئية وتكوين الأورام [1] بسبب زيادة الإجهاد التأكسدي لخلايا الجلد مما يؤدي إلى بدء السرطان وتطوره [5]. في كل عام يشخص حوالي مليون شخص بسرطان الجلد ويموت حوالي 10000 بسبب الورم الميلانيني الخبيث، وتكون مناطق الجسم الأكثر تعرضاً لأشعة الشمس مثل الوجه والرقبة والرأس وظهر اليدين هي الأكثر إصابة بسرطان الجلد[6].

يحمي الجلد نفسه تلقائياً من هذه الأشعة الضارة بواسطة الجزيئات الموجودة طبيعياً في الجلد وهي الميلانين والترتوفان أو الريبوفلافين، تؤكسد هذه الأشعة الميلانين وتتسبب باسمرار الجلد بالمقابل يمتص الترتوفان أو الريبوفلافين الأشعة المولدة لجذور الأكسجين وتكبح تأثيراته الضارة [2]. يستنفذ التعرض المستمر لهذه الأشعة عناصر الحماية الموجودة طبيعياً في الجلد، مما يستدعي حماية الجلد بطرقٍ أخرى كاستخدام قبعاتٍ أو نظاراتٍ أو ملابس خاصة والأهم والأفضل هو استخدام الواقيات الشمسية [2].

تعرف الواقيات الشمسية على أنها مستحضراتٍ صيدلانيةٍ تحمي الجلد من التأثيرات الضارة للأشعة الشمسية المتضمنة الحروق الشمسية بجميع درجاتها، التصبغات، الأورام السرطانية والتجاعيد، تتوفر الواقيات الشمسية بأشكالٍ صيدلانيةٍ عديدةٍ منها الغسولات والردادات والهلاميات والكريمات الموضعية ويتم تصنيعها من قبل مختبرات مستحضرات التجميل والمصانع الدوائية. تصنف الواقيات الشمسية بحسب نوع العامل الواقي الشمسي إلى عضوية وغير عضوية . الواقيات الشمسية غير العضوية هي واقياتٍ شمسيةٍ فيزيائيةٍ مثل أكسيد الزنك ZNO و أكسيد التيتانيوم TIO₂،

وتعمل على حماية الجلد من الأشعة الضارة بعكسها وتشتيتها، يواجه هذا النوع من الواقيات الشمسية تحديات تتعلق بالناحية التجميلية بسبب الطبقة البيضاء المتشكلة على البشرة بعد تطبيقها وبعضها الآخر يتعلق بالسلامة. في حين الواقيات الشمسية العضوية هي واقيات شمسية كيميائية مثل بارا أمينوبنزويك أسيد (PABA) بالإضافة إلى السينامات والسالييلات والبنزوفينونات والبنزيميدازول ومشتقات الكافور، وتعمل على حماية الجلد من الأشعة الضارة بإضعاف طاقتها عن طريق امتصاصها، يواجه هذا النوع من الواقيات الشمسية تحديات تتعلق بموضوع الأمان حيث صنف على أنه سامّ ضوئياً ويسبب تفاعلات تحسسية [2].

تصنف الواقيات الشمسية تبعاً لإدارة الغذاء والدواء الأمريكية حسب قيمة عامل الحماية من الشمس أو ما يسمى Sun Protection Factor (SPF) الذي يدل على المدة الزمنية التي يحمي فيها المنتج المستخدم الجلد من هذه الأشعة الضارة [8]. يعرّف SPF بأنه أدنى كمية من طاقة الأشعة فوق البنفسجية التي تسبب احمراراً MED على جلدٍ محمي بالواقي الشمسي مقسوماً على أدنى كمية من هذه الطاقة التي تسبب احمراراً على جلدٍ غير محمي بالواقي الشمسي [9].

وفقاً لإرشادات الوكالة الوطنية للرقابة الصحية ANVISA يجب أن يكون ال $SPF = 43,6$.

توصي FDA بالاستخدام المتكرر والمنظم للواقيات الشمسية بقيمة $SPF = 15$ أو أعلى [2].

يجب الواقي الشمسي بقيمة $SPF = 15, 30, 50$ الأشعة فوق البنفسجية بمقدار 72, 90, 97 % على التوالي [10].

نظراً للسلبات الكبيرة المترتبة على استخدام الواقيات الشمسية التقليدية من جهةٍ وضرورة تطبيق الواقي الشمسي للحدّ من مخاطر هذه الأشعة من جهةٍ أخرى، تم التوجه إلى مصادر أخرى متوفرة واقتصادية وأكثر أماناً ولها القدرة على الحماية من هذه الأشعة، فكانت الطبيعة بمملكتها النباتية والعشبية المتنوعة بديلاً مناسباً، فضلاً عن كونها خياراً مناسباً للأشخاص الذين يفضلون استخدام المواد النباتية [11].

وهذا ما وجّه أنظار الباحثين والدراسات الحديثة إلى استخدام المستخلصات النباتية كعوامل واقية شمسية طبيعية أو معززة للمستحضرات الواقية الشمسية. يعزى التأثير الواقي الشمسي للنباتات الطبية إلى مستقلباتها الثانوية [12] وبشكل خاص البولي فينولات والأحماض الفينولية الكلية والفلافونويدات [7]، ارتبط المحتوى العالي من الفينول والفلافونويدات في النباتات الطبية بنشاطها المضاد للأكسدة والتي تلعب دوراً في الوقاية من شيخوخة الجلد وبشكل خاص الشبخوخة الناتجة عن الإجهاد التأكسدي [13]. تعمل المستخلصات النباتية الغنية بالفلافونويدات على حماية الجلد من تأثيرات الأشعة فوق البنفسجية عن طريق امتصاص هذه الأشعة بسبب وجود الروابط المزدوجة أو الحلقات العطرية في بنيتها [2,3] أو عن طريق دورها كمضاد أكسدة [5].

يعد نبات إكليل الجبل من النباتات الطبية دائمة الخضرة والمتوفرة والمنتشرة بكثرة في بلدنا سوريا مما جعل أنظارنا تتوجه لدراسة التأثير الواقي الشمسي لهذا النبات. أدت المركبات الحيوية النشطة الغنية الموجودة في إكليل الجبل ودورها المضاد للأكسدة إلى توسيع نطاق تطبيقاته في الصناعة الدوائية والغذائية والتجميلية [14]. يصنف إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* من الفصيلة الشفوية، ويعتبر من النباتات العطرية المعمّرة بشكل شجيرة بأغصانٍ مليئةٍ بالأوراق العطرية الخضراء، يصل ارتفاعها إلى مترين، وهونبات طبي موطنه البحر الأبيض المتوسط ويزرع في جميع أنحاء العالم إلى جانب غرضه العلاجي المتمثل كمضاد التهاب ومضاد أكسدة ومضاد ميكروبات، يستخدم كتوابل ومادة حافظة للأطعمة بالإضافة إلى أنه من نباتات الزينة [15]. المركبات النشطة الأكثر شيوعاً في نبات إكليل الجبل : حمض الكافيين وحمض الكارنوسيك وحمض الكلورجينيك وحمض الأولينوليك وحمض الروزمارنيك وحمض الأورسوليك و ألفابنين والكافور والكارنوسول والأوكالبيتول [15]. يعزى التأثير المضاد للأكسدة لنبات إكليل الجبل وبالتالي القدرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية الضارة المرتبطة بهذه الخاصية إلى الفينولات النباتية المتمثلة بحمض الكارنوسيك والكارنوسول وحمض الروزمارنيك [16].

دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة

يهدف هذا البحث العلمي إلى دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات نبات إكليل الجبل بعد تحضيرها بطرائق استخلاص ومذيبات مختلفة، وذلك بالاعتماد على قياس قيمة عامل الحماية الشمسي لهذه المستخلصات، وإمكانية استخدامها كواقيات شمسية طبيعية بديلة عن الواقيات الشمسية التقليدية.

2- المواد والأجهزة والأدوات المستخدمة :

2-1 المواد المستخدمة

يبين الجدول 1 المواد المستخدمة في هذا البحث مع بلد المنشأ والشركة المصنعة

المواد المستخدمة	بلد المنشأ والشركة المصنعة
نبات إكليل الجبل الطبي	Homs ، Syria
ماء مقطر	-
الإيتانول المطلق	(Eurolab)، UK
الميتانول المطلق	(Eurolab)، UK
الأسيتون	(Eurolab)، UK
كلوريد الألمنيوم	Titan biotech, india
كربونات الصوديوم	Titan biotech, india
كربونات الصوديوم اللامائية	eurolab, England
خلات الرصاص	Titan biotech, india
هيدروكسيد الصوديوم	Medex, UK
مسحوق المغنيزيوم	Titan biotech, india
مسحوق التوتياء	Titan biotech, india
حمض كلور الماء الكثيف	Medex, UK

Himedia laboratories limited, India	حمض الحماض
Himedia laboratories limited, India	حمض البور
-	Folin-Denis كاشف
Titan biotech, india	حمض الغاليك

الجدول 1: المواد المستخدمة

2-2 الأجهزة المستخدمة

يبين الجدول 2 الأجهزة المستخدمة في هذا البحث مع بلد المنشأ والشركة المصنعة

بلد المنشأ والشركة المصنعة	الأجهزة المستخدمة
	مطحنة كهربائية
	رجاج كهربائي
Germany (Hwashin Technology)	حوض الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic
Australia Velp scientifica	جهاز تحريك مغناطيسي مع التسخين Magnetic stirrer
Sartorius TE214, Germany	ميزان حساس
Switzerland (Heidolph Instruments)	جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator
Japan (Shimadzu)	جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer
	الساحبة

الجدول 2: الأجهزة المستخدمة

2-3- الأدوات المستخدمة

يبين الجدول 3 الأدوات المستخدمة في هذا البحث.

السعة	الأدوات المستخدمة
100ml,250ml	بياشر
100ml,250ml	أرليمينات
25ml,50ml,100ml	دوارق حجمية
1ml ,2ml,5ml,10ml	ممصات عيارية
-	مراشح ميكرونية 0,45 ميكروليتر
-	جففات زجاجية
500 ميكروليتر ، 1000 ميكروليتر	ميكروبيبت
-	خلايا كوارتز

الجدول 3: الأدوات المستخدمة

3- طرائق العمل

3-1- جمع النبات وتوصيفه

تم جني أوراق إكليل الجبل الطبي من محيط جامعة حمص خلال الأشهر الثلاثة الأخيرة من السنة بحيث يكون تركيز المواد الفعالة بأعلى مستوياته [17]. تم غسل الأوراق بماء الصنبور للتخلص من الغبار والمواد العالقة ومن ثم بالماء المقطر، جففت الأوراق في الظلام لمدة شهرٍ ثم تم تنعيمها باستخدام مطحنةٍ إلى أجزاءٍ صغيرةٍ من أجل تسهيل عمليات الاستخلاص التالية.

3-2- تحضير المستخلصات

3-2-1- طرائق الاستخلاص المستخدمة

اعتمدنا في هذه الدراسة لأول مرة على الجمع بين طريقتي استخلاص بدرجة حرارة الغرفة حيث تم أولاً استخلاص جميع العينات بالتعطين ومن ثم استخلاص تالي باستخدام الأمواج فوق الصوتية أو الرجاج الكهربائي وذلك وفق البروتوكول التالي:

تم وزن 10g من النبات الجاف وإضافة 100ml من المذيبات التالية: الميثانول المطلق، الإيثانول المطلق، الماء المقطر، الإيثانول المطلق مع الماء المقطر بنسبة (1:1).

تم تحضير ثمانية مستخلصات من إكليل الجبل الطبي، تم تعطينها جميعها لمدة يومين ثم تم متابعة الاستخلاص بطريقة الأمواج فوق الصوتية لمدة ساعتين لنصف العينات، والنصف الآخر تم متابعة استخلاصه بطريقة الرجاج الكهربائي لمدة ساعتين، وقد تم إجراء كامل العمل المخبري بدرجة حرارة الغرفة.

تم ترشيح العينات السابقة باستخدام مرشح ميكرونية ومن ثم تكثيفها باستخدام جهاز المبخر الدور، وأخيراً تم التخلص من بقايا المذيب تحت الساحبة بدرجة حرارة الغرفة بعيداً عن الضوء والحرارة حتى حصلنا على خلاصات بألوان وكميات وقوام مختلف بحسب نوع المذيب والطريقة المستخدمة. تم حفظ الخلاصات السابقة في البراد لحين الاستخدام.

3-2-2- حساب مردود الاستخلاص

تم حساب مردود الاستخلاص من العلاقة:

$$\text{Yield\%} = w1/w2 * 100 \dots\dots (1)$$

حيث $w1$ وزن الخلاصة الخام، $w2$ وزن العينة المستخلص منها [18].

3-3- تحضير المحاليل المستخدمة في التحديد الكمي والكيفي للفلافونويدات

محلول كلوريد الألمنيوم 1% : يحل 1g من كلوريد الألمنيوم في قليل من الميثانول المطلق ثم يكمل الحجم إلى 100 ml ضمن بالون معايرة 0

محلول هيدروكسيد الصوديوم 1N: يحل 4g من هيدروكسيد الصوديوم في 100ml ماء مقطر.

محلول كربونات الصوديوم 2%: يحل 2g من كربونات الصوديوم بالماء المقطر حتى تمام الأنحلال ثم يكمل الحجم إلى 100 ml ضمن بالون المعايرة.

سلسلة حمض الغاليك : تم تحضير محلول أم بتركيز 5g/l وذلك بوزن 0,125g من حمض الغاليك ووضعها في بالون معايرة سعة 25 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى العلام.

تم تحضير سلسلة عيارية متزايدة التركيز من حمض الغاليك g/l (0,1-0,6) ابتداء من المحلول الأم،

تم إجراء مسح طيفي للمحلول الأم ضمن المجال (200-800)nm لتحديد طول الموجة الأعظمي.

3-3-1-الكشف الكيميائي عن الفلافونويدات :

أضيف 20 ml من الميثانول المطلق إلى 2g من مسحوق النبات الجاف وتم الاستخلاص بجهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة نصف ساعة، رشحت الخلاصة الميثانولية باستخدام أوراق ترشيح وأجريت عليها اختبارات الكشف التالية للتأكد بشكل دقيق من وجود الفلافونويدات :

1. تفاعل كلوريد الألمنيوم: أضيف 1ml من كلوريد الألمنيوم الكحولي 1% إلى 1 ml من الخلاصة تشكل لوناً أصفر تالق تحت الأشعة فوق البنفسجية بطول موجة 365nm دليلاً على وجود الفلافونويد[19].

2. تفاعل هيدروكسيد الصوديوم : أضيف عدة قطراتٍ من محلول هيدروكسيد الصوديوم 1N إلى 1ml من الخلاصة ظهور لونٍ أصفرٍ واضحٍ يدل على وجود الفلافونويد[19].

3. تفاعل خلات الرصاص: أضيف عدة قطراتٍ من محلول خلات الرصاص إلى 1 ml من الخلاصة ، تشكّل راسبٍ أصفرٍ عند إضافة الكاشف يدل على وجود الفلافونويد [20].

4. تفاعل لوني حسب شينودا جفف مقدار 3 ml من الخلاصة بدرجة حرارة 50 درجة مئوية حتى الحصول على رسابٍ ، تم حلها بالإيثانول المطلق وأضيف بعدها 0,1g من مسحوق المغنيزيوم وبضع قطراتٍ من حمض كلور الماء الكثيف، ظهور لونٍ أحمرٍ ثابتٍ يدل على وجود الفلافونويدات [21] .

5. تفاعل لوني حسب بيف: جفف مقدار 3 ml من الخلاصة بدرجة حرارة 50 درجة مئوية حتى الحصول على رسابٍ ، تم حلها بالإيثانول المطلق ، وأضيف بعدها 0,1g من مسحوق التوتياء وبضع قطراتٍ من حمض كلور الماء الكثيف تشكّل راسبٍ أحمرٍ يدل على وجود الفلافونويد[22].

6. تفاعل ويلسون تابوك : أخذ مقدار 1ml من الخلاصة ومزج مع 0,5g حمض الحمض و0,5g حمض البور، جففت ثم أضيف 3ml أسيتون ثم جفف ، يحل الراسب في 3ml إيثر. تألق المحلول باللون الأخضر عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية بطول موجة 365nm يدل على وجود الفلافونويد[23].

3-3-2-تحديد المحتوى الكلي من المواد الفينولية :

جرى تحديد المحتوى الكلي للفينولات في الخلاصة الأفضل مردوداً وفق طريقة Folin-Ciocalteu التي ذكرها الباحثان Nicholson و Vermerris [23]

- ❖ أخذ 0,1g من الخلاصة الجافة وحلها ب 10ml ماء مقطر، بحيث يصبح تركيز المركبات الفينولية في محلول الخلاصة ضمن حدود الامتصاصية الممكن تحديدها وفق السلسلة العيارية لحمض الغاليك كونه يمتلك بنية كيميائية قريبة جداً من بنية الفينولات.
- ❖ أخذ 0,1ml من الخلاصة إلى أنبوب اختبارٍ وأضيف إليه 2ml من محلول كربونات الصوديوم 2%.
- ❖ أضيف 0,1ml من كاشف Folin-Denis الممدد بنسبة 1:1 بالماء المقطر. ترك المزيج بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعةٍ ومن بعدها تم قراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 750nm.
- ❖ حضر شاهدٌ بنفس الطريقة السابقة ولكن بدون الخلاصة وتم الاستعاضة عنها بنفس الحجم من الماء المقطر.
- ❖ جرى حساب المحتوى الكلي للفينولات اعتماداً على المعادلة الناتجة عن السلسلة العيارية لحمض الغاليك، حيث تم التعبير عن النتائج بعدد غرامات حمض الغاليك المكافئة للمركبات الفينولية الموجودة في 1g من الخلاصة الجافة والأوراق الجافة.

3-4- قياس الـ SPF للمستخلصات المحضرة :

تم حل المستخلصات الجافة بنفس المذيب المستخدم للاستخلاص حتى تمام الانحلال مع الحاجة أحياناً للتسخين لتسريع حلّ العينات ذات القوام الدبق.

تم تحضير سلسلةٍ متزايدة التركيز (50,100,150,200,250) ميكروغرام /مل اعتماداً على قانون التمديد بدءاً من التركيز الذي حصلنا عليه لكل مستخلص.

تم قياس امتصاصية كلّ سلسلةٍ محضرةٍ لكل مستخلصٍ على حدى ضمن مجال الـ UVB(290-320)

تم حساب قيمة SPF جبرياً، وذلك بتعويض قيم الامتصاصية السابقة في معادلة منصور وزملائه [9].

$$\text{SPF spectrophotometer} = \text{CF} * \sum \text{EE} * \text{I} * \text{Abs}$$

EE: قدرة كل طول موجة على إحداث تأثير حرق بالجلد .

I : الكثافة الشعاعية .

Abs : امتصاص العينة للأشعة .

CF: معامل التصحيح = 10.

قيم EE*I هي ثوابت مبيّنة في الجدول.

Wavelength (nm)	قيم EE*I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1.0000

الجدول 4 : قيم الثابت EE*I مقابل الأطوال الموجية

- النتائج والمناقشة :

4-1- مردود الاستخلاص

عند تعويض الوزن المستخدم والذي حصلنا عليه من المستخلصات الجافة في العلاقة (1) حصلنا على مردود الاستخلاص كنسبة مئوية لكلا الطريقتين .

يبين الجدول 5 مردود الاستخلاص للعينات المستخلصة محسوبا كنسبة مئوية .

الماء المقطر	إيتانول مطلق +ماء مقطر 1:1	الميتانول المطلق	الإيتانول المطلق	المحل	الطريقة
15,4 ₀ ±3%	22,26 ₀ ±6%	18,03 ₀ ±4%	24,66 ₀ ±7%		التعطين + الأمواج فوق الصوتية
14,26 ₀ ±2%	21,73 ₀ ±1%	14,8 ₀ ±3 %	15,97 ₀ ±5%		التعطين + الرجاج الكهربائي

الجدول 5 : مردود طرائق الاستخلاص المستخدمة

تشير النتائج الاحصائية إلى وجود فروق ذات دلالات احصائية في مردود الاستخلاص بين طريقي الاستخلاص وبين أنواع المذيبات المستخدمة.

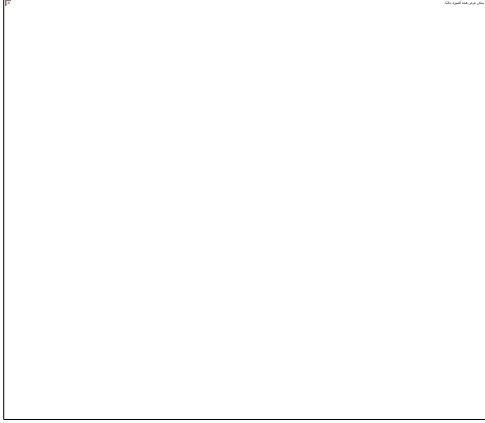
تبين وجود ازدياد في مردود الاستخلاص بشكل معنوي عند استخدام طريقة التعطين ومن ثم الأمواج فوق الصوتية بالمقارنة مع مردود الاستخلاص الناتج عن استخدام طريقة التعطين ومن ثم الرجاج الكهربائي.

يمكن تفسير ما تقدّم أن استخدام الأمواج فوق الصوتية يحسن اختراقية المحل للأنسجة وجدران الخلايا النباتية [25] ، وهذا يتفق مع دراسة أجريت في إيران من قبل زهراء هاشمي وزملائها على أوراق نبات [C.melo] [5] حيث تحسن المردود باستخدام الأمواج فوق الصوتية.

وعند مقارنة المذيبات حقق الإيتانول المطلق المردود الأفضل باستخدام طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية. بينما حقق الإيتانول المطلق مع الماء المقطر مردود الاستخلاص الأعلى باستخدام طريقة الاستخلاص بالتعطين ثم بالرجاج الكهربائي، بينما ويمكن

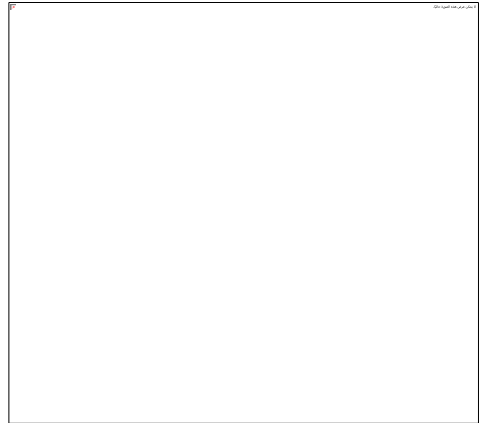
تفسير ذلك بأن أن الإيتانول قادر على سحب المواد اللاقطبية بشكل أساسي، في حين أن مذيب الماء مع الإيتانول قادر على سحب المواد القطبية واللاقطبية معاً.

تبيين الصور (1-8) الخلاصات الناتجة عن طرائق الاستخلاص باستخدام محلات مختلفة



الصورة 2: المستخلص الإيتانولي

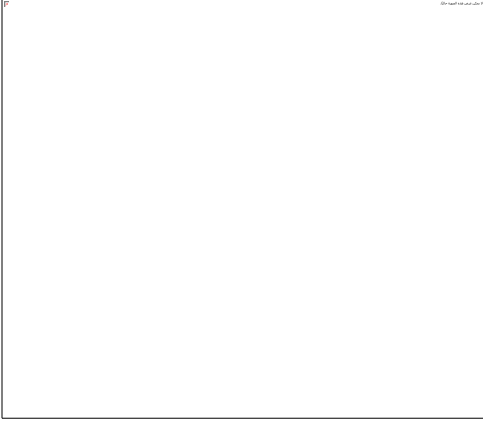
بطريقة التعطين ثم الرجاج الكهربائي



الصورة 1: المستخلص الإيتانولي المحضر

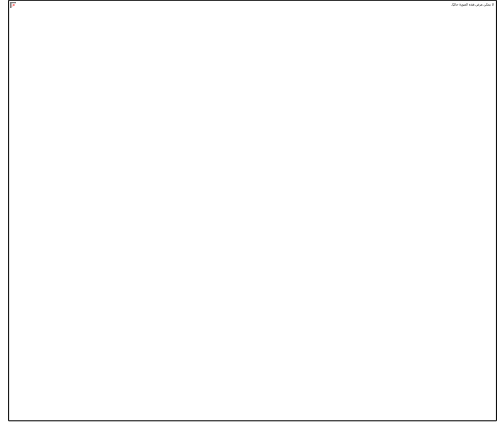
بطريقة التعطين ثم الأمواج فوق الصوتية

دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة



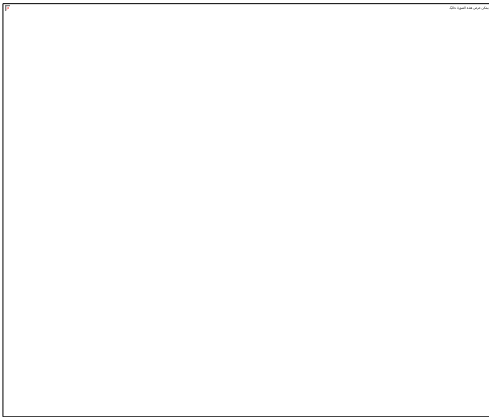
الصورة 4: المستخلص الميثانولي المحضر

بطريقة التعطين مع الرجاج



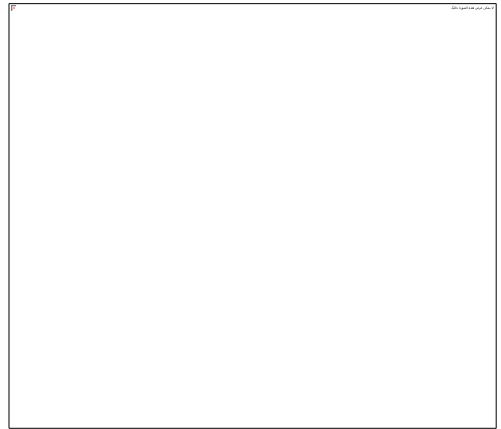
الصورة 3: المستخلص الميثانولي المحضر

بطريقة التعطين مع الأمواج



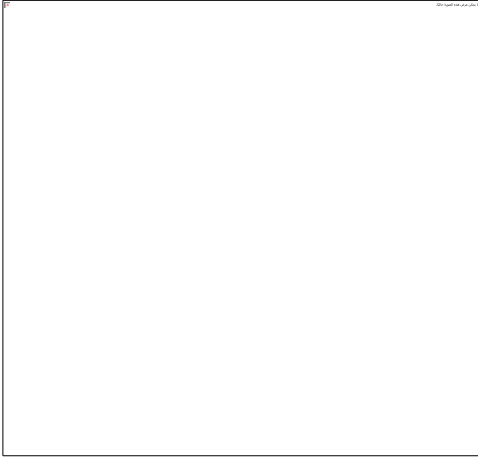
الصورة 6: المستخلص المائي المحضر

بطريقة التعطين مع الرجاج



الصورة 5 : المستخلص المائي المحضر

بطريقة التعطين مع الأمواج



الصورة 8: مستخلص الماء + الإيتانول

المحضر بطريقة التعطين مع الرجاج



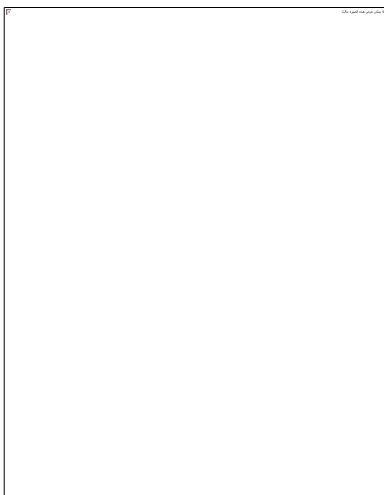
الصورة 7: مستخلص الماء + الإيتانول

المحضر بطريقة التعطين مع الأمواج

4-2- الكشف الكيميائي عن الفلافونويدات :

كانت نتائج الكشف عن الفلافونويدات إيجابية في جميع العينات، حيث أصبحت الخلاصة بلونٍ اصفرٍ عند إضافة كل من كلوريد الألمنيوم وهيدروكسيد الصوديوم (الصورة 9، 10)، وتم الحصول على راسبٍ اصفرٍ بإضافة خلات الرصاص (الصورة 11). في حين تشكل راسبٌ أحمرٌ ثابتٌ عند إضافة حمض كلور الماء الكثيف في تفاعلي شينودا وبيف (الصورة 12، 13) ، وتألفت الخلاصة بلونٍ أخضرٍ عند تعريضها لأشعة UV في تفاعل ويلسون توباك (الصورة 14).

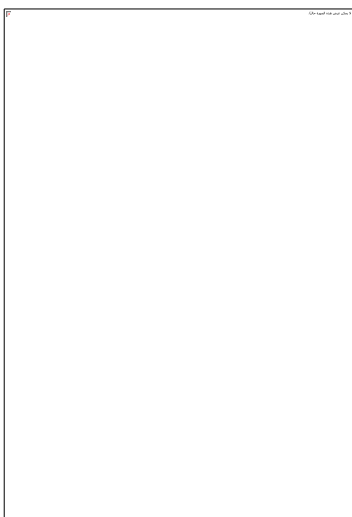
دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة



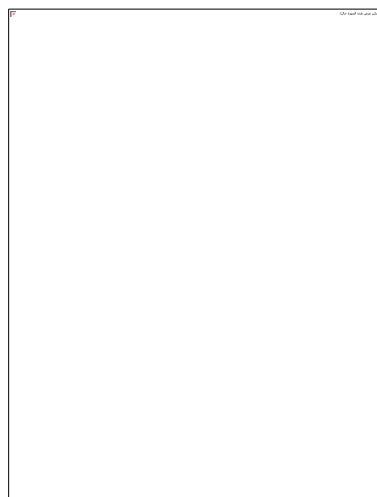
الصورة 10 : تفاعل هيدروكسيد



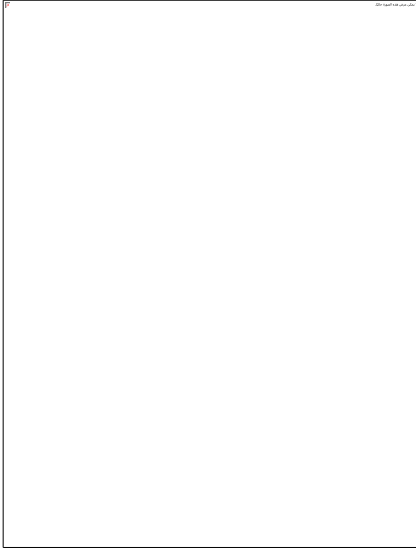
الصورة 9: تفاعل كلوريد الألمنيوم
الصوديوم



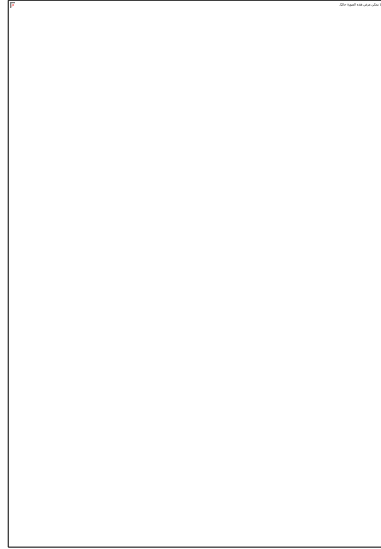
الصورة 12 : تفاعل شينود



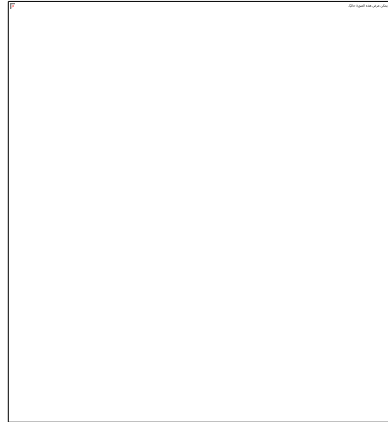
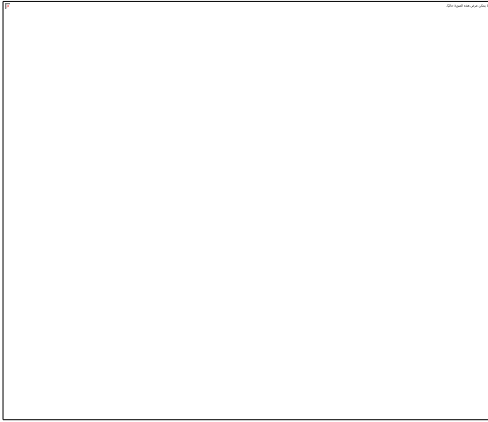
الصورة 11: تفاعل خلات الرصاص



الصورة 14: تفاعل ويلسون توباك



الصورة 13 : تفاعل بيف-شينوفا



الصورة 9- 16 التفاعلات الكيميائية للكشف عن الفلافونويدات

3-4- تحديد المحتوى الكلي من المواد الفينولية

يبين الشكل 17 المسح الطيفي لحمض الغاليك ضمن المجال المرئي وفوق البنفسجي (200-800 نانومتر). يلاحظ أن طول موجة الامتصاص الاعظمي 320 نانومتر.

يوضح الشكل 18 الامتصاصيات المقابلة للتركيز المختلفة للسلسلة العيارية لحمض الغاليك.



الشكل 17: المسح الطيفي لحمض الغاليك



الشكل 18 : الامتصاصيات المقابلة لتركيز السلسلة العيارية

- عند دراسة العلاقة بين التراكيز والامتصاصية حصلنا على معادلة خطية على النحو التالي:
$$y=0,993x-0,0776$$

نلاحظ أن قيمة معامل الارتباط قريبة جداً من الواحد وبالتالي فإن العلاقة خطية بين الامتصاصية والتراكيز.
- امتصاصية العينة عند طول الموجة $750nm = 0,769$.
بتعويض قيمة امتصاصية العينة السابقة في المعادلة الخطية لحمض الغاليك نجد أن تركيز الفينول في 0,1ml من الخلاصة الجافة : 0,8525 g/l.
حساب محتوى الفينول الكلي g مكافئ حمض الغاليك / g خلاصة جافة = التركيز العملي / التركيز النظري
$$= 0,8525 / 10 = 0,08525g/g = 85,25g/kg$$

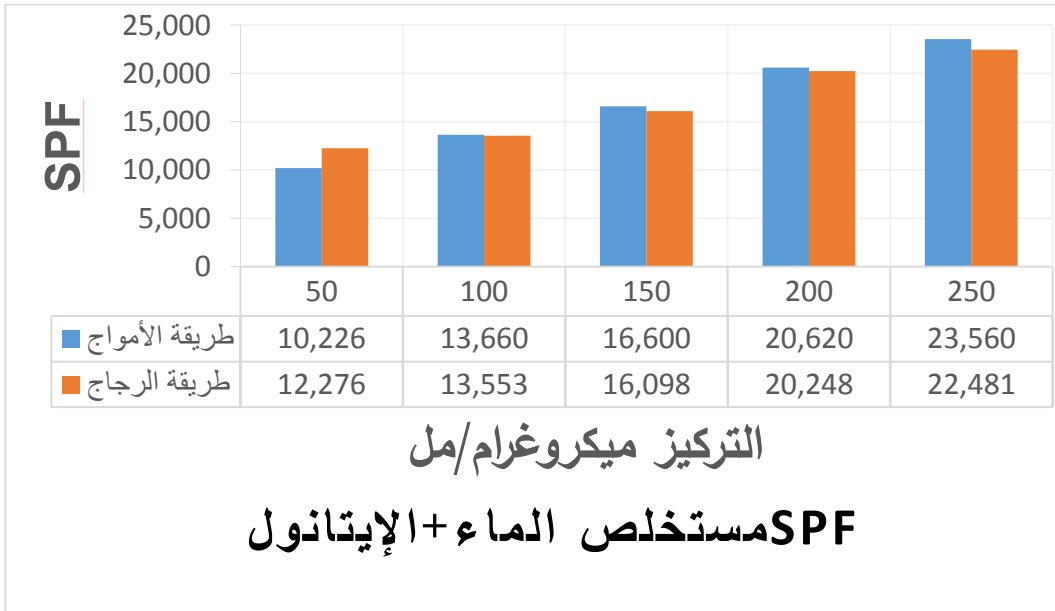
الخلاصة الجافة
- حساب كمية الفينولات الكلية في النبات الجاف :
$$0,2498 \times 0,08525 = 0,02129 g/g$$
$$= 21,129g/kg$$
- يعد تركيز المواد الفينولية الذي حصلنا عليه في الخلاصة الجافة أعلى من التركيز الذي تم الحصول عليه ضمن خلاصة أوراق إكليل الجبل الجافة المستخلصة بجهاز الأمواج فوق الصوتية فقط في دراسة سابقة (51,7 g/kg) [26].
- من الممكن أن يعود تركيز الفينول العالي لنبات إكليل الجبل في هذه الدراسة إلى: استخدام طريقتي استخلاص متتاليتين مما أدى إلى زيادة مردود الاستخلاص بشكل عام وللمواد الفينولية بشكل خاص .

- من الملاحظ أن تركيز المواد الفينولية في الخلاصة الجافة أعلى مما هو عليه في النبات الجاف ومن الممكن تعليل ذلك بأن طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية قد ساهمت بتمزق النسيج النباتي الجاف وزيادة استخلاص المواد الفينولية بالسائل المستخدم.

4-4- حساب ال SPF:

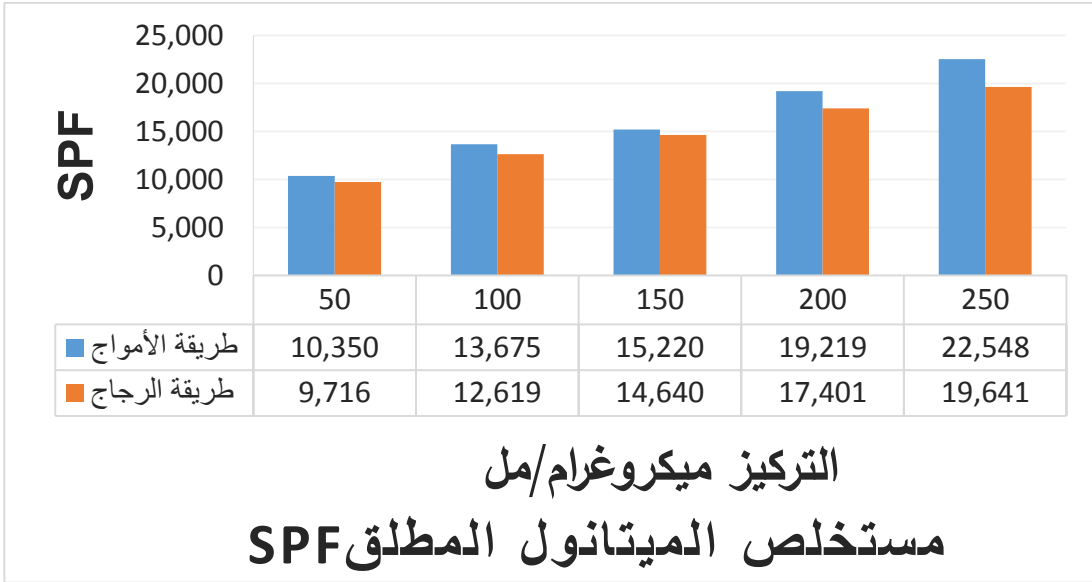
عند دراسة امتصاصيات المستخلصات المقابلة لتراكيز مختلفة وجدنا قيم العامل الحماية الشمسية متزايدة طردياً مع التركيز لكلا طريقتي الاستخلاص .

4-4-1- مستخلص الماء المقطر + الإيتانول :



الشكل 20: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الماء + الإيتانول (1:1)

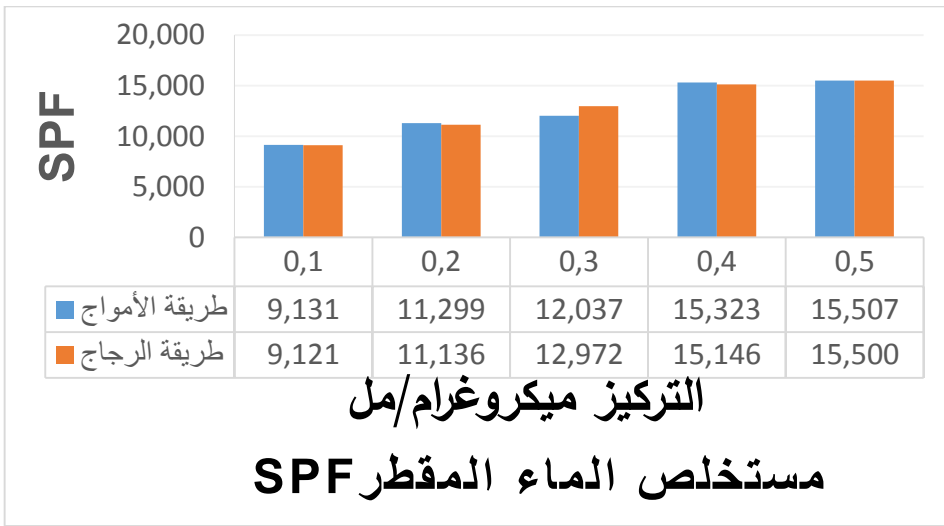
4-4-2- المستخلص الميتانولي :



الشكل 21: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الميتانول المطلق

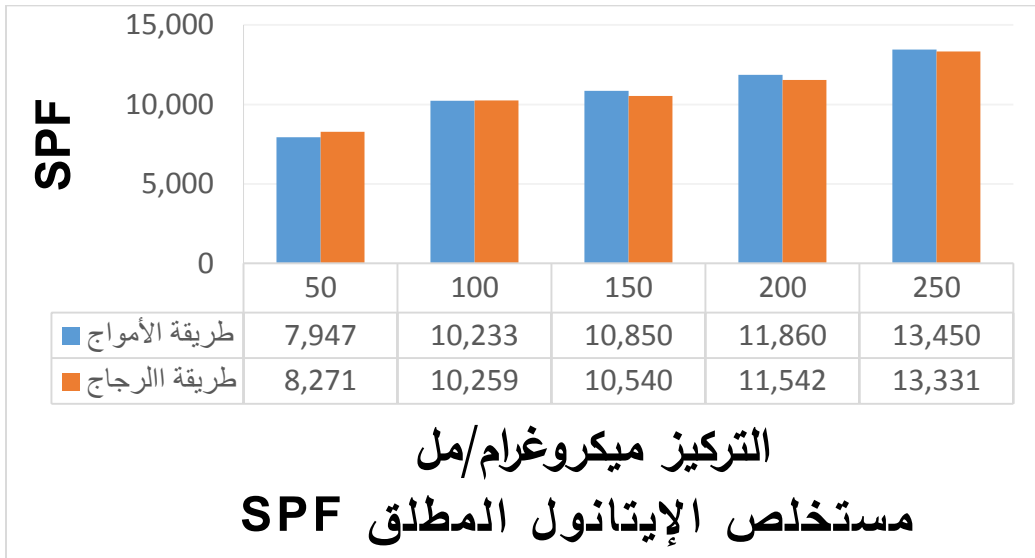
4-4-3- مستخلص الماء المقطر:

دراسة القدرة الواقية الشمسية لمستخلصات أوراق إكليل الجبل المحضرة باستخدام طرائق استخلاص ومذيبات مختلفة



الشكل 22: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الماء المقطر

4-4-4- المستخلص الإيتانولي :



الشكل 23: حساب SPF لتراكيز مختلفة لمستخلص الإيتانول المطلق

حققت طريقة التعطين مع الأمواج فوق الصوتية قيمة SPF الأعلى لغالبية المستخلصات (إحصائياً الفرق بين الطريقتين لجميع المحلات مع جميع التراكيز غير معنوي $p > 0,05$)، ويمكن تفسير ذلك :

بتحسن استخلاص المركبات الفعالة بشكل عام كما هو ملاحظ بنتائج مردود الاستخلاص والمركبات الفينولية بشكل خاص نتيجة استخدام الأمواج فوق الصوتية بعد طريقة التعطين في الاستخلاص مما ساهم بزيادة اختراقية المحل للأنسجة النباتية [25] وهذا ما نتج عنه زيادة القدرة على الحماية من الأشعة الشمسية بسبب احتواء المواد الفينولية على مجموعة هيدروكسيلية حرة مما يكسبها القدرة على كنس الجذور الحرة وصنفت على أنها مضادات أكسدة طبيعية [27]، من جهة ثانية يعد المحتوى العالي من المواد الفينولية لنبات إكليل الجبل عائداً الى كمية الفلافونويدات (11,8 g) حيث يتواجد مركب الروتين يتركيز عال والحموض الفينولية مثل حمض الكوماريك وفيروليك والكاتشين والكامفيرول والكويرستين [28].

حققت مستخلصات الإيتانول مع الماء المقطر قيمة SPF الأعلى من بين جميع المذيبات بفروق معنوية في كلا الطريقتين تلاها مستخلصات الميتانول ومن ثم الماء المقطر و أخيراً الإيتانول المطلق. يمكن تفسير ذلك: بأن مذيب الإيتانول مع الماء المقطر قادر على استخلاص المواد القطبية مثل الفنولات والمواد اللاقطبية مثل السكريات والتي لها قدرة واقية من أشعة الشمس، بينما مذيب الميتانول المطلق فقد

بلغ تركيز المواد الفينولية في مستخلصاته لنبات إكليل الجبل بحسب دراسة أجراها الباحث Terul وزملائه 20,41 MG CA/KG وقد يكون أحد الأسباب في ارتفاع قيمة SPF العائدة لهذه المستخلصات [29].

5- الاستنتاجات والتوصيات :

5-1- الاستنتاجات:

- من خلال الدراسة السابقة نستنتج ما يلي: 1- استخدام طريقتي استخلاص (تعطين ثم أمواج فوق صوتية، تعطين ثم رجاج كهربائي) في هذا البحث أدى إلى زيادة المردود وتقليل حجم المذيبات المستخدمة بالمقارنة مع استخدام طريقة استخلاص واحدة في الدراسات المرجعية السابقة.
- 2- الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية واستخدام الإيتانول المطلق كمذيب هو الأفضل من حيث مردود الاستخلاص.
- 3- الاستخلاص بطريقة التعطين ثم بالأمواج فوق الصوتية واستخدام الإيتانول مع الماء المقطر كمذيب هو الأفضل من حيث قيمة عامل الحماية الشمسي
- 4- مستخلصات إكليل الجبل لها قدرة واقية شمسية بسبب محتواها العالي من البوليفينولات عموماً والفلافونويدات خصوصاً.

5-2- التوصيات :

نوصي بما يلي :

- 1- إضافة الخلاصات النباتية ضمن أشكالٍ صيدلانيةٍ مختلفةٍ ودراسة تأثيرها الواقية الشمسي.
- 2- دراسة تحليلية كمية للفلافونويدات الموجودة في الخلاصة.

6-المراجع :

- [1] Liyan Li, Lan Chong, Tao Huang, Yunge Ma, Yingyan Li, Hui Ding 2023. Natural products and extracts from plants as natural UV filters for sunscreens,Animal Models and Experimental Medicine A review, 6 (3), 183–195.
- [2] Walters,K.A.,&Roberts,M.S. 2002–The structure and function of skin.In Dermatological and Transdermal Formulations.(Issue 1). (pp.1–40).
- [3] LC Cefali, JA Ataide, P Moriel, MA Foglio, PG MazzolaInternational 2016 Plant-based active photoprotectants for sunscreens, journal of cosmetic Science 38 (4), 346–353.
- [4] Weatherhead,S.C.,Farr,P.M.,&Reynolds,N.J.2012 Spectral effects of UV on Psoriasis , National Library of Medicine 1;12(1):47–53. .
- [5] HASHEMI, Z. EBRAHIMZADEH,M., KHALILI,M 2019 Sun protection factor, total phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of medicinal plants from Iran,Tropical journal of Pharmaceutical Research18(7):1443–1448

- [6] ra EA, Oliveira DA, Kedor–Hackmann ERM, Santoro MI 2004 Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry, Brazillian Journal of Pharmaceutical Sciences Vol.40(3) .
- [7] Svobodova A, Psotova J, Walterova D 2003 Natural phenolic in the prevention of UV–induced skin damage, a review, National Library of Medicine,147(2): 137–145.
- [8] Schalka, S., & Manoel, V. (2011). Sun protection factor.meaning protecao solar , signifcado e controversia. 86(3),507–515.
- [9] C. Malsawmtluangi, Deepak Kumar Nath, Italini Jamatia, Lianhingthangi, E. Zarzoliana, Laldusanga Pachuau 2013 Determination of Sun Protection Factor (SPF) number of some aqueous herbal extracts, Journal of applied Pharmaceutical Science. Vol.3(09),pp150–151
- [10] P. Goswami, Mayuri Samant, R. Srivastava (2013).Natural Sunscreen Agents : A Review,Medicine, Environmental Science, Chemistry . Vol. 2(06),458–463.
- [11] Radice, M., Manfredini, S., Ziosi, P., Dissette, V., BUSO, P., Fallacara, A.,&Vertuani, S 2016 Herbal extracts ,lichens and biomolecules as natural photo–protection alternatives to synthetic UV filters ,EISEVIER , vol. 114,pp144–162.

- [12] Schroeder, P., Lademann, J., Darvin ,M.E., Stee, H.,Marks, C.,Bruhnke, S.,&Krutmann, J.,2008 Infrared Radiation–Induced Matrix. Metalloproteinase in Human Skin : Implications for Protection. Journal of Investigative Dermatology , Vol.128(10), pp2491–2497.
- [13] Azwanida NN1,2 2015 A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle Strength and Limitation, Medicinal & Aromatic Plants. Vol (4),pp1–6.
- [14] ASHARA ,M, NAJAFIAN, SH, & RADI,M 2021 Seasonal variation on the major bioactive compounds: total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of rosemary from shiraz, Natural Product Research, Vol. 36(2):1–6
- [15] OLIVEIRA,J ,CAMARGO,S, OLIVEIRA,L 2019 Rosmarinus officinalis L (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent, Journal of biomedical science 26 (1), 5 .
- [16] ANDRADE,J, FAUSTINO,C, GARCIA,C , LADEIRAS,D, REIS,C, RIJO,P 2018 Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity , National Library of Medicine . vol 4 (4), FSO283, 2018
- [17] KATAR,N *1, KATAR,D 2, TEMEL,T3, KARAKURT ,S 3, BOLATKIRAN3, Emel YILDIZ J3, SOLTANBEİĞİ,A 2019. The effect of different harvest dates on the yield and quality properties of rosemary

(Rosmarinus officinalis L.) plant ,Biological Diversity and Conservation .

Vol.12(3):7-13

[18] R. Joujeh. Phytochemical and Biological Study of Centaurea

Cineraria L. Cultivated in Syria 2020 ,Bulletin of Pharmaceutical

sciences Assiut. Vol.43,pp141-147.

[19] Harborne, J.B. Photochemical Methodss : A Guide to Modern

Techniques of Plant Analysis. London: United Kingdom . Chapman and

Hall. P:278

[20] Ashkurfo,Rabia,AL-Jangawi,Atika,and AL-Aswad,Nadia.2019

Organic Detection of some Chemical Compounds of Green and Purple

Cabbage Extracts,International Journal of Science and Technology

.Issue 16,p.p1-15... In Arabic.

[21] Shah,B.N.,&Seth,A.K.2010 -Textbook of Pharmacognosy and

Phytochemistry- .1ed..Elsevier.p:578.

[22] Youssef,A, SKER,L, DAEA,R (2024). A Chimical study of the thistle

plant Tribules terrestris L., Widespread in the Hama countryside in

Syria, Tishreen University Journal.Vol.46 NO(1)

[23] Aleem,A,.2018.Phytochemical Detection of the Active Ingredients in

thesyrian Medicinal Plant Tribulus Terrestris L.from the Zingiberaceae

Family.Syrian Journal of Agricultural Research.Vol.4,No:5.P-P.166-

187. In Arabic.

[24] Nicholson, R.and W. Vermerris 2006 – Phenolic compound biochemistry– . Springer, Berlin ,Germany.

[25] Aitemimi, A., D. G. Watson, R. Coudhary, M, R. Dasari and D. A. Lightfoot(2016).

Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins.

[26] AHMAD.A,2023–A study of the anti–meat effect of rosemary and laurel extract for use in meat preservation–. Latakia, Syria,79p. (In Arabic).

[27] Robard, K.,P.D. Prenzler, G. Tucker, P. Swatsitang and W.Glover 1999

Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits, Food Chemistry .vol 66(4):401–436.

[28]Bianchin, M., D . Pereira, J. d. F. Almeida, C. d. Moura, R. S. Pinheiro, L. F. S. Heldt, C. W. I. Haminiuk and S. T. Carpes (2020). Antioxidant properties of lyophilized rosemary and sage extract and its effect to prevent lipid oxidation in poultry pate . Molecules 25(21):5160

[29] Teruel, M. R., M. D. Garrido, M. C. Espinosa and M. B. Linares (2015). Effect of different format– solvent rosmar extracts(Rosmarinus

officialis) on frozen chicken nuggets quality . Food Chemistry 172:

40-64

دراسة تأثير الإصابة بالإشريكية القولونية على بروتينات الطور الحاد عند الأرانب

أشرف الصالح³

ماهر صالح²

عاصم الباكير¹

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التغيرات في مستوى بروتينات الطور الحاد (البروتين التفاعلي - CRP C، الهابتوغلوبين HP، السيرويلازمين CP) لدى الأرانب عند إصابتها بالعدوى التجريبية بجراثيم الإشريكية القولونية الإشريكية القولونية النزفية المعوية (EHEC)، حيث أجريت هذه الدراسة في كلية الطب البيطري التابعة لجامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2025/8/2 و 2025/9/5.

تم إجراء التجربة على 15 أرنب بعمر يتراوح بين (6-8) أسابيع وبوزن (500-700) غ بعد حساب الجرعة النصف المعدية، قسمت الأرانب إلى مجموعتين تضم المجموعة الأولى (الشاهد) 6 أرانب والمجموعة الثانية (التجربة) 8 أرانب، حيث جرعت حيوانات التجربة بجراثيم الإشريكية القولونية ولمرة واحدة بجرعة 5×10^4 CFU/ml، وسحبت عينات الدم في اليوم (2، 3، 5، 7) لدراسة مستوى كل من (CRP, HP, CP).

وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع في تركيز الـ CRP عند الحيوانات المصابة تجريبياً بجراثيم الإشريكية القولونية حيث تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد بداية من اليوم الثاني وبدا بالانخفاض عند اليوم الخامس، وقياس تركيز الـ HP تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد بدأ من اليوم الثالث إذ لم يلاحظ فروق معنوية في تركيز الهابتوغلوبين ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد في اليوم الثاني، وقياس تركيز الـ

CP تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد بدأ في اليوم الخامس إذ لم يلاحظ فروق معنوية في تركيز السيروبلازمين ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد في اليوم الثاني والثالث. نستنتج من هذه الدراسة وجود بروتينات الطور الحاد وارتفاع تركيزها عند الإصابة بجراثيم الإشريكية القولونية (EHEC) واختلاف سرعة الاستجابة في ارتفاع بروتينات الطور الحاد حيث كان الـCRP هو الأسرع و CP هو الأبطأ.

الكلمات المفتاحية: الإشريكية القولونية، الإسهال، الأرانب، بروتينات الطور الحاد

- 1 طالب دراسات عليا (دكتوراه) - قسم الصحة العامة والطب الوقائي - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.
- 2 أستاذ مساعد في قسم الصحة العامة والطب الوقائي - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.
- 3 مدرس في قسم الأحياء الدقيقة - كلية الطب البيطري - جامعة حماه.

A study on the effect of Escherichia coli infection on acute-phase proteins in rabbits

ASEEM AL-BAKER¹

MAHER SALEH²

ASHRAF AL-

SALEH³

Abstract

This study aimed to evaluate the changes in the concentration of acute-phase proteins (C-reactive protein (CRP), Haptoglobin (HP), and Ceruloplasmin (CP)) in rabbits following experimental infection with Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC). The study was conducted

at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Hama, between August 2, 2025, and September 5, 2025.

The experiment was performed on 15 rabbits aged 6–8 weeks and weighing 500–700 grams. After determining the median infectious dose, the rabbits were divided into two groups: a control group (n=6) and an experimental group (n=8). The animals in the experimental group were inoculated with a single dose of E. coli at a concentration of 5×10^4 CFU/ml. Blood samples were collected at days 2, 3, 5, and 7 post-infection to assess the levels of CRP, HP, and CP.

The results revealed a significant increase in CRP concentration in the rabbits experimentally infected with E. coli. A statistically significant difference ($p \leq 0.05$) was observed between the experimental and control groups starting from day 2, with the concentration beginning to decline by day 5.

Regarding HP concentration, a statistically significant difference ($p \leq 0.05$) between the experimental and control groups emerged on day 3. No significant difference in haptoglobin concentration was noted between the two groups on day 2.

Measurement of CP concentration showed a statistically significant difference ($p \leq 0.05$) between the experimental and control groups beginning on day 5. No significant differences in ceruloplasmin concentration were observed between the groups on days 2 and 3. In conclusion, this study demonstrates that acute-phase proteins respond to infection with EHEC by increasing in concentration, with varying

response kinetics. CRP was the most rapidly responding protein, while CP exhibited the slowest response

Key words: Escherichia coli, Diarrhea, rabbits, on acute-phase proteins

- 1) Postgraduate Student (P.H.D) – Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.
- 2) PHD in Public Health and Preventive Medicine – Department of Public Health and Preventive Medicine –College of Veterinary Medicine – University of Hama.
- 3) PHD in Microbiology –Department of microbiology – College of Veterinary Medicine –University of Hama

المقدمة:

يعد الإسهال من المشاكل المرضية التي تصيب الحيوانات حديثة الولادة، كما إنه من المشاكل ذات الأهمية الكبرى لما تشكله من خسائر اقتصادية كبرى لمربي الحيوانات، إذ يؤدي الشكل الحاد منه الى نفوق اعداد كبيرة بسبب التجفاف والسدمية وحموضة الدم وفقد الشوارد الهامة أما الشكل تحت الحاد فيستمر الإسهال عدة أيام مؤدياً الى فقدان الوزن فضلاً عن الخسائر الناجمة عن التأخر في النمو إلى جانب تكاليف المعالجة فضلاً عن أن بعض هذه الأخماج تشكل خطراً على الصحة العامة (Cho and Yoon, 2014).

تُبث من قبل أن الإشريكية القولونية يمكن أن تسبب تفشي إسهال حاد والنفوق في الأرانب الصغيرة منذ عدة سنوات وبشكل عام، تُعد الأمراض المعوية الناتجة عن عدوى الإشريكية القولونية من الأسباب الرئيسية للإسهال المائي وارتفاع معدلات النفوق في الأرانب خلال السنوات الأخيرة، ازداد الاهتمام بشكل متزايد بالإسهال في الأرانب الفطام، حيث تسبب هذه الحالة في خسائر كبيرة في مزارع الأرانب الكبيرة. وأن تفشي الإسهال في الأرانب حدث غالباً خلال

الأسبوعين الأولين بعد الفطام، عندما كانت الحيوانات بعمر 5-7 أسابيع (Matić et al., 2022). ووجد (Penteado et al., 2002) أن الإسهال الناجم عن الإشريكية القولونية كان مرض فطام نموذجي بين 5 و 8 أسابيع من العمر، في ظروف تربية الحيوانات على نطاق واسع. ونظرًا لقدرة البكتيريا على عبور حاجز الأمعاء والدخول إلى السطح الطلائي، فإنها تتفاعل مع الببتيدات المضادة للميكروبات والسييتوكينات والبروتينات الطورية الحادة (APPs) المشتقة من الخلايا الطلائية (Clemente et al., 2003; Ozmen et al., 2009).

إن استجابة الطور الحاد (APR) تمثل رد فعل مبكرًا ومعقدًا للغاية للكائن الحي تجاه أنواع مختلفة من الإصابات مثل العدوى البكتيرية أو الفيروسية أو الطفيلية، أو الصدمات الميكانيكية أو الحرارية، أو النخر الناتج عن الإقفار، أو النمو الخبيث (Cray, 2022). تعمل مجموعة من التغيرات في الكائن الحي بتناسق لتحديد العامل المسبب للالتهاب وتعزيز التئام الأنسجة (Jain et al., 2021).

وقد ربطت الأبحاث بين زيادة إنتاج بروتينات الطور الحاد وبين حالات العدوى والالتهابات الحادة في الأرانب (Sheriff et al., 2021). ووفقًا لـ Matson وآخرون (2012)، فإن الهابتوجلوبين (HP)، وهو أحد البروتينات الطورية الحادة، يتواجد في بلازما جميع الحيوانات وترتفع مستوياته استجابة للحالات الالتهابية، أما السيرولوبلازمين (CP) فهو بروتين سكري من نوع α_2 يُعد أحد أهم بروتينات الطور الحاد الإيجابية، يؤدي دورًا حيويًا كإنزيم فيروكسيديز، يتمتع بنشاط مضاد قوي للأكسدة يحمي أنسجة العائل من إطلاق مستقلبات الأكسجين السامة من الخلايا البلعمية في حالة الالتهاب (Bakhautdin et al., 2014).

حيث ترتفع التركيزات الدموية لبعض بروتينات الطور الحاد عند الإصابة بالتهاب، وتتراوح شدة هذا الارتفاع من حوالي 50% في حالة السيرولوبلازمين وبعض مكونات المتممة، إلى ما يصل إلى 1000 ضعف في حالة البروتين التفاعلي C (CRP) و الأميلويد A المصلي (Eckersall, 2000). وترتبط التغيرات في تركيزات هذه البروتينات في الدم بشدة الاضطراب

ومدى تلف الأنسجة في الحيوان المصاب؛ لذا يمكن أن يوفر قياسها معلومات تشخيصية وتنبؤية إذا تم ضبط التوقيت المناسب لأخذ العينات (Jain et al., 2021).

اهداف الدراسة:

1- دراسة التغيرات في بروتينات الطور الحاد (CRP, CP, HP) أثناء الإصابة التجريبية بالإشريكية القولونية EHEC.

مواد وطرق العمل:

أجريت هذه الدراسة في كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2025/8/2 و 2025/9/5.

تصميم التجربة

تم إجراء التجربة على أرناب محلية بعمر يتراوح بين (6-8) أسابيع ووزن (500 - 700) غ وتم استخدام (15) أرناباً لغرض إجراء التجربة ، كما استخدم 25 أرناب لغرض تحديد الجرعة النصف معدية. ووضعت في أقفاص معدنية نظيفة وهياً لها الظروف الطبيعية مع فرش الأرضية بالنشارة الخشبية الناعمة وتركت لمدة أسبوعين للتأقلم وقدم لها العلف الأخضر والمركز ودرجة حرارة بين (15-22)م° وقبل البدء بالتجربة تم التأكد من خلوها من الأمراض عن طريق الفحص السريري.

حساب الجرعة المعدية لنصف حيوانات التجارب ID50 :

تحضير العينة الجرثومية :

تم تنمية عزولة جرثومية نقية من الإشريكية القولونية النزفية المعوية (EHEC) مشخصة باستخدام تقنية الـ PCR وتحتوي على الجينات (*stx₂*, *eaeA*) على المرق المغذي لمدة 18 ساعة.

تحديد تركيز الجراثيم:

تم أخذ 1 مل من المزرعة الجرثومية وقياس قيمة الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي عند OD₆₀₀ بعد تصفير الجهاز باستخدام المرق المغذي الخالي من الجراثيم ، كما تم حساب تعداد للجراثيم التي قيست امتصاصيتها باستخدام المعادلة التالية :

$$CFU/ml \times \text{عامل التحويل} = OD_{600}$$

حيث أن عامل التحويل للإشريكية القولونية تقريبا يساوي 8×10^8 خلية/ مل لكل OD₆₀₀1 (Koch, 1994) بعد ذلك تم اجراء تخفيفات عشرية للعزولة الجرثومية في محلول ملحي معقم (PBS) على تراكيز مختلفة ($10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6$ CFU/ml) وذلك حسب القاعدة $C1 V1 = C2 V2$.

تحضير الأرناب للعدوى الفموية:

تم تصويم الأرناب لمدة 12-18 ساعة قبل العدوى لتقليل محتوى المعدة وضمان امتصاص أفضل للجراثيم، كما تم إعطاء الأرناب 2 مل من محلول بيكربونات الصوديوم (2%) عن طريق الفم قبل 30 دقيقة من العدوى لتحبيد حمض المعدة وزيادة بقاء البكتيريا (Smith and Johnson, 2018).

حيث قسمت الأرناب إلى 5 مجموعات تضم كل مجموعة 5 أرناب وأعطيت كل مجموعة العالق الجرثومي ممزوج ب 3 مل من الحليب منزوع الدسم وذلك باستخدام أنبوب التغذية المطاطي حسب التخفيفات العشرية التالية ($10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6$ CFU/ml).

تمت مراقبة الحيوانات لفترة (7-15 يوم) وتسجيل اي علامات سريرية للمرض أو الوفاة.

ثم تم اتباع طريقة ريد ومينش (Reed and Muench, 1938) لحساب الجرعة المعدية لنصف حيوانات التجربة وذلك حسب المعادلة التالية :

$$ID_{50} = A + \left(\frac{50\% - C}{B - C} \right) \times \log_{10} (D)$$

حيث إن :

A: الجرعة التي تسببت بنسبة أعلى من 50%

B: النسبة المئوية التراكمية الأعلى من 50%

C: النسبة المئوية التراكمية الأقل من 50%

D: عامل التخفيف (الفرق بين الجرعة الأعلى والأقل من 50%).

بعد تحديد الجرعة النصف معدية والتي بلغت 4.2×10^4 CFU/ml تم إجراء التجربة على مجموعتين من الأرانب:

(1) المجموعة الأولى (الشاهد): تضم 6 أرانب وبقيت على حالها دون عدوى .

(2) المجموعة الثانية: وتضم 8 أرانب وجرعت بالإشريكية القولونية المذيفة للأمعاء

بجرعة 5×10^4 CFU/ml.

وتم مراقبة الحيوانات وسحب عينات الدم في اليوم الثاني والثالث والخامس والسابع من بدء التجربة.

وقد أجري مسحات شرجية للحيوانات وأعيد تشخيصها للتأكد من العزلة المستخدمة بالتجربة. مؤشرات الدراسة:

مستوى تركيز البروتين النفاعلي - C-reactive protein C (CRP):

تم سحب عينات الدم من الوريد الأذني للأرانب وأجري الطرد المركزي عند 3000 دورة/دقيقة

لمدة 10 دقائق لفصل المصل وأجري قياس تركيز CRP باستخدام المناعة الضوئية

(Immunoturbidimetry) حسب (Rifai et al., 1999) إذ تعتمد هذه الطريقة على قياس

التغير في عتامة (Turbidity) المحلول الناتج عن تكوين معقدات مناعية (Immune

Complexes) بين CRP والأجسام المضادة، وكلما زاد تركيز CRP زادت العتامة، حيث تم

استخدام عتيدة جاهز من شركة (AGAPPE DIAGNOSTICS) السويسرية واتبعت تعليمات

الشركة المصنعة في تجهيز الأختبار وتم قياسها باستخدام مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) عند طول موجي 540 نانومتر .

قياس الهبتوغلوبين (HP – Haptoglobin)

تم اتباع طريقة (Dati et al., 1996) إذ تعتمد على ارتباط الهبتوغلوبين بالهيموغلوبين الحر وتقدير المعقد الناتج. إذ تم إضافة كمية محددة من الهيموغلوبين البشري المحضر من شركة (Lee Biosolutions) وتركيز 0.5mg/ml إلى المصل. إذ يرتبط الهبتوغلوبين مع الهيموغلوبين الحر لتكوين معقد HP-Hb.

ويتم قياس المعقد باستخدام تقنية الامتصاص الضوئي على جهاز (Spectrophotometer) عند طول موجي 450 نانومتر. وتم حساب تركيز HP بناءً على كمية الهيموغلوبين المربوط.

قياس السيرولوبلازمين (CP – Ceruloplasmin):

تم اتباع طريقة (Dati et al., 1996) إذ تم قياس النشاط الإنزيمي للسيرولوبلازمين باستخدام ركيزة الفينيلين داي أمين (PDA). إذ تم خلط 50 ميكرو لتر من المصل مع 1 مل من ركيزة PDA في محلول أسيتات (pH 5.2). ثم تم حضن الخليط عند 37°م لمدة 30 دقيقة. ثم إضافة 1 مل من حمض الكبريتيك M9 لإيقاف التفاعل وقياس الامتصاصية عند 540 نانومتر وتم حساب تركيز CP بناءً على كمية المنتج المؤكسد.

التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج مايكروسوفت اكسل 2019 وبرنامج (vs,8.2.1) padgraph prism لمعالجة البيانات وتشكيل المخططات وحساب الفروق المعنوية بين المجموعات.

النتائج والمناقشة:

أكدت الفحوصات الجرثومية لعينات المستقيم أن جميع العزلات من الحيوانات المصابة تنتمي إلى سلالة الإشريكية القولونية المستخدم في هذه التجربة.

ظهرت العلامات السريرية للإسهال لأول مرة في 5 أرناب في اليوم الثالث. وقد أظهرت باقي الحيوانات لاحقاً (بين اليوم الرابع والثامن) أعراض الإصابة ، إذ حدث إسهال كأحد أهم الأعراض في الإصابة، لكن العلامات السريرية تراجعت تدريجياً في هذه الحيوانات منذ اليوم التاسع، مع ملاحظة حدوث نفوق لحيوانين من مجموعة التجربة في اليوم السادس وحيوان واحد في اليوم السابع.

تركيز البروتين التفاعلي C (CRP):

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع في تركيز الـ CRP عند الحيوانات المصابة تجريبياً بجراثيم الإشريكية القولونية حيث تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد، كما لوحظ ارتفاع حاد لتركيز الـ CRP في مجموعة التجربة خلال تقدم الإصابة بالزمن إذ بلغ أعلى تركيز له في اليوم الثالث ثم بدأ بالإنخفاض في اليوم الخامس جدول رقم (1)، مخطط رقم (1)،

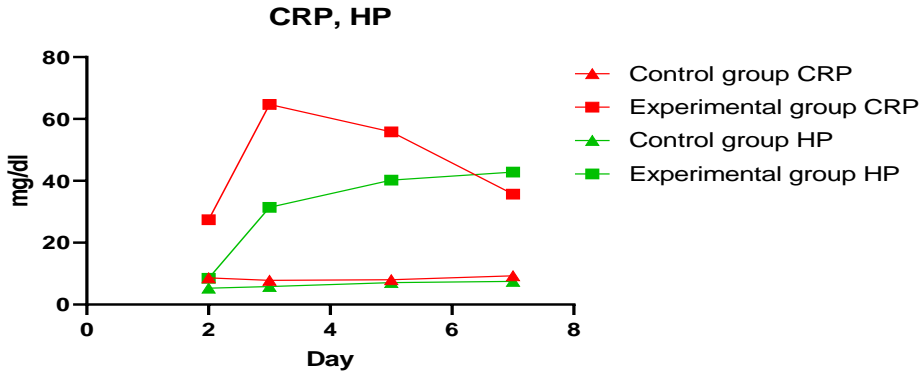
جدول رقم (1): مستوى تركيز (CRP) لدى مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية

المدروسة mg/dl

المجموعة الثانية (التجربة)	المجموعة الأولى (الشاهد)	
^A 27.4 ^b ± 5.78	^A 8.6 ^a ± 2.54	اليوم الثاني
^B 64.7 ^b ± 8.95	^A 7.8 ^a ± 3.26	اليوم الثالث
^C 55.8 ^b ± 7.45	^A 8 ^a ± 1.64	اليوم الخامس
^D 35.7 ^b ± 8.11	^A 9.3 ^a ± 6.75	اليوم السابع

تشير الأحرف a,b,c المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في الصف الواحد

تشير الأحرف A,B,C,D المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في العمود الواحد



مخطط رقم (1): مستوى تركيز (CRP) و (HP) لدى مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة mg/dl

تركيز الهابتوغلوبين (HP):

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع في تركيز الـ HP عند الحيوانات المصابة تجريبياً بجراثيم الإشريكية القولونية حيث تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد بدأ في اليوم الثالث إذ لم يلاحظ فروق معنوية في تركيز الهابتوغلوبين ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد في اليوم الثاني، كما لوحظ ارتفاع لتركيز الهابتوغلوبين في مجموعة التجربة خلال تقدم الإصابة بالزمن إذ بلغ أعلى تركيز له في اليوم السابع، إذ تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين تراكيز الهابتوغلوبين خلال اليوم الثاني

والثالث والخامس في حين لم يوجد فروق معنوية في تركيز الهابتوغلوبين ما بين اليومين الخامس والسابع جدول رقم (2)، مخطط رقم (1).

جدول رقم (2): مستوى تركيز (HP) لدى مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة
mg/dl

المجموعة الثانية (التجربة)	المجموعة الأولى (الشاهد)	
^A 8.5 ^a ± 6.75	^A 5.3 ^a ± 1.32	اليوم الثاني
^B 31.4 ^b ± 4.87	^A 5.8 ^a ± 2.2	اليوم الثالث
^C 40.2 ^b ± 8.41	^A 7.1 ^a ± 2.67	اليوم الخامس
^D 42.8 ^b ± 8.35	^A 7.5 ^a ± 4.46	اليوم السابع

تشير الأحرف a,b,c المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في الصف الواحد

تشير الأحرف A,B,C,D المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في العمود الواحد

تركيز السيروبلازمين (CP):

أشارت نتائج هذه الدراسة إلى ارتفاع في تركيز الـ CP عند الحيوانات المصابة تجريبياً بجراثيم الإشريكية القولونية حيث تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد بدأ في اليوم الخامس إذ لم يلاحظ فروق معنوية في تركيز السيروبلازمين ما بين مجموعة التجربة ومجموعة الشاهد في اليوم الثاني والثالث، كما لوحظ ارتفاع لتركيز السيروبلازمين في مجموعة التجربة خلال تقدم الإصابة بالزمن في اليوم الخامس إذ بلغ أعلى تركيز له في اليوم السابع، إذ تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) ما بين تراكيز السيروبلازمين خلال اليوم الثاني والثالث مقارنة مع اليوم الخامس والسابع في حين

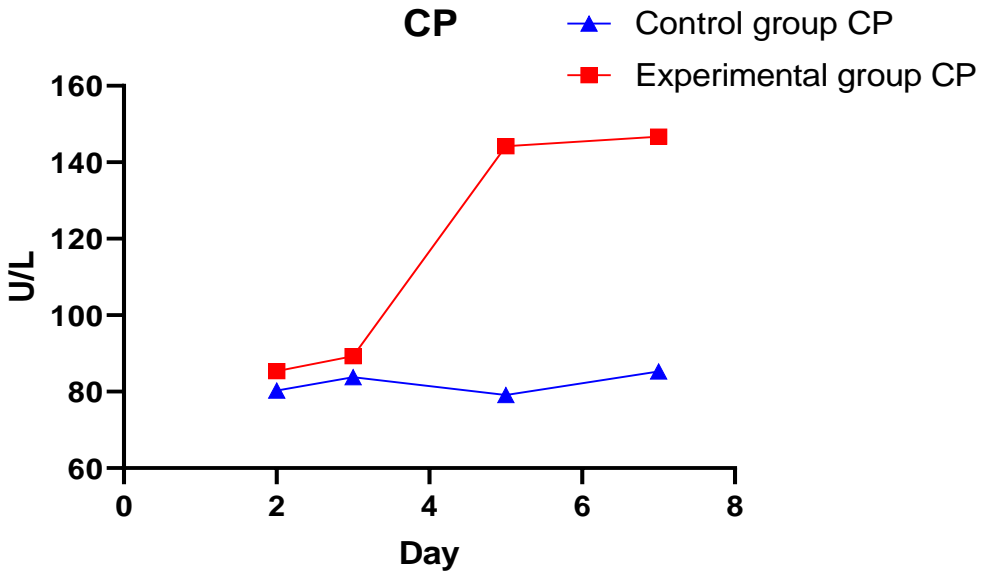
لم يوجد فروق معنوية في تركيز السيروبلازمين ما بين اليومين الثاني والثالث وكذلك ما بين اليومين الخامس والسابع جدول رقم (3)، مخطط رقم (2).

جدول رقم (3): مستوى تركيز (CP) لدى مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة
U/L

المجموعة الثانية (التجربة)	المجموعة الأولى (الشاهد)	
$^{A}85.4^a \pm 13.75$	$^{A}80.3^a \pm 11.26$	اليوم الثاني
$^{A}89.3^a \pm 11.67$	$^{A}83.8^a \pm 8.63$	اليوم الثالث
$^{B}144.2^b \pm 17.56$	$^{A}79.1^a \pm 12.36$	اليوم الخامس
$^{B}146.7^b \pm 22.53$	$^{A}85.3^a \pm 8.47$	اليوم السابع

تشير الأحرف a,b,c المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في الصف
الواحد

تشير الأحرف A,B المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في العمود الواحد



مخطط رقم (2): مستوى تركيز (CP) لدى مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة U/L

في هذه الدراسة تم استخدام البروتينات الطورية الحادة (APPs) كمعلمات للكشف المبكر عن الإسهال في الأرانب الفطام. عادةً ما تظهر العلامات السريرية للإسهال بعد 4-9 أيام من العدوى الجرثومية (Swennes et al., 2012) وقد تم اختبار أرانب في فترة الفطام لأن هذا هو العمر الذي تواجه فيه الأرانب معظم المشكلات والخسائر المرتبطة بهذه الفئة العمرية. (El-Ashram et al., 2020; Wang et al., 2020) حيث أحدثت الإصابة التجريبية للأرانب بجراثيم الإشريكية القولونية ارتفاعاً ملحوظاً في بروتينات الطور الحاد وبفترات مختلفة إذ تبين أن الأسرع في الارتفاع كان الـ CRP يليه الـ HP ثم يليه الـ CP وهذا يوافق ما أخبر عنه (Sproston and Ashworth, 2018) أن بروتين CRP هو الأسرع والأكثر حدة في الاستجابة، حيث يبدأ مستواه في الارتفاع خلال 4-6 ساعات من بداية العدوى، ليصل إلى

ذروته خلال 24-48 ساعة. نظراً لقصر عمر النصف لديه (حوالي 19 ساعة)، فإنه ينخفض بسرعة كبيرة بمجرد السيطرة أو انخفاض العدوى، مما يجعله مؤشراً ممتازاً لمراقبة فعالية العلاج، كما إن استجابة بروتينات الطور الحاد الأخرى تكون أبطأ. حيث يبدأ الهابتوغلوبين في الارتفاع بعد حوالي 24-48 ساعة ويصل إلى ذروته بعد عدة أيام (4-5 أيام)، بينما يعد السيروبلازمين ابطأ من ال CRP و HP في الاستجابة، إذ يبدأ الارتفاع بعد حوالي 48 ساعة ولا يصل إلى ذروته إلا بعد 4 إلى 7 أيام، وغالباً ما يستغرق أسابيع ليعود إلى مستواه الطبيعي (Del Giudice & Gangestad, 2018). وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنها متقاربة لما وجده (Al-Ali et al., 2025) إذ أخبر عن ارتفاع في كل من بروتينات الطور الحاد (CRP, HP, CP) عند إصابة الأرناب بالإشريكية القولونية O26 حيث بلغ CRP ذروته عند اليوم الثالث بعد العدوى التجريبية ثم بدأ بعدها بالإنخفاض أما الـ HP فقد بلغ ذروته في اليوم الـ 11 بعد العدوى التجريبية أما CP فقد بدأ بالارتفاع في اليوم الثالث وبلغ ذروته في اليوم الـ 15 بعد الإصابة، كما أنها متقاربة مع ما وجده (Georgieva et al., 2009) إذ أخبر عن ارتفاع في كل من بروتينات الطور الحاد عند إصابة الأرناب بالإشريكية القولونية O15 حيث بلغ الـ HP ذروته في اليوم الـ 3 بعد العدوى التجريبية أما CP فقد بدأ بالارتفاع بعد اليوم الثالث وبلغ ذروته في اليوم الـ 11 بعد الإصابة. وفي دراسة (Peñailillo et al., 2016) ارتفعت CRP في المصل بشكل ملحوظ بعد 4 ساعات من الحقن الوريدي لعدد السكاريد الشحمي (LPS) المستخلص من جراثيم الإشريكية القولونية، وبجرعة $1\mu\text{g}/\text{kg}$ وظلت مرتفعة حتى 24 ساعة، كما أكد (Petersen et al., 2004) على أنه يمكن أن ترتفع بروتينات الطور الحاد بمقدار قد يصل حتى 1000 ضعف استجابة للإصابات والحالات الالتهابية والعدوى.

ونعتقد أنه يعود ارتفاع مستوى بروتينات الطور الحاد المقاسة في الحيوانات المصابة إلى الحالة الالتهابية التي أحدثتها الإشريكية القولونية.

الإستنتاجات:

- (1) أدت العدوى التجريبية إلى ارتفاع كل من CRP, HP, CP.
- (2) اختلاف سرعة الاستجابة في ارتفاع بروتينات الطور الحاد حيث كان الـ CRP هو الأسرع و CP هو الأبطأ.
- (3) يمكن استخدام قياس بروتينات الطور الحاد كمؤشر للإصابة بالإشريكية القولونية.

التوصيات:

- (1) إجراء دراسات حول مؤشرات أخرى أكثر تخصصاً للكشف عن الالتهابات الجرثومية.
- (2) استخدام قياس بروتينات الطور الحاد كمؤشر للإصابة المعوية بالإشريكية القولونية.

المراجع:

- (1 Al Ali, A., Salama, S. M., Darwish, W. S., & Abdelazim, A. M. (2025). Acute phase proteins as potent early biomarkers for the detection of Escherichia coli infection in white New Zealand rabbits. *Open Veterinary Journal*, 15 (2), 977–982.
- (2 Bakhautdin, B., Goksoy Bakhautdin, E. and Fox, P.L. (2014). Ceruloplasmin has two nearly identical sites that bind myeloperoxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 453, 722–727.
- (3 Cho, Y.-I., & Yoon, K.-J. (2014). An overview of calf diarrhea – infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), 1–17.
- (4 Clemente, M.G., De Virgiliis, S., Kang, J.S., Macatagney, R., Musu, M.P., Di Pierro, M.R., Drago, S., Congia, M. and Fasano, A. (2003). Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*, 52, 218–223.
- (5 Cray, C. (2022). Acute Phase Proteins and the Acute Phase Response in Animals. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (7th ed., pp. 435–454). Academic Press .

(6 Dati, F., Schumann, G., Thomas, L., Aguzzi, F., Baudner, S., Bienvenu, J., Blaabjerg, O., Blirup– Jensen, S., Carlstrom, A., Petersen, P.H., Johnson, A.M., Milford–Ward, A., Ritchie, R.F., Svendsen, P.J. and Whicher, J. (1996). Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities. College of American Pathologists. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 34, 517–520.

(7 Del Giudice, M., & Gangestad, S. W. (2018). Rethinking IL–6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. Brain, Behavior, and Immunity, 70, 61–75 .

(8 Eckersall P.D.: Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. Rev. Med. Vet., (2000), 151, 577–584.

(9 El–Ashram, S., Aboelhadid, S.M., Abdel–Kafy, E.M., Hashem, S.A., Mahrous, L.N., Farghly, E.M. and Kamel, A.A. (2020). Investigation of pre– and post–weaning mortalities in rabbits bred in Egypt, with reference to parasitic and bacterial causes. Animals (Basel), 10, 537.

- (10 Georgieva, T., Georgiev, I., Tanev, S., Vachkov, A., Petrov, V., Eckersall, P. D., Sotirov, L., Lazarov, L., Christov, T., & Nikolov, J. (2009). Variations of acute phase protein (haptoglobin, fibrinogen and ceruloplasmin) concentrations in weaning rabbits after experimental infection with E. coli. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 160 (3), 133–139.
- (11 Jain, S., Gautam, V., & Naseem, S. (2021). Acute-phase proteins: As a diagnostic marker. *Journal of Laboratory Physicians*, 13(2), 89–95.
- (12 Matić, Z., Stojanović, D., & Veljović, L. (2022). Enteropathogenic *Escherichia coli* in weaned rabbits: Pathogenesis, diagnostics and control strategies. *Veterinary Research Communications*, 46(3), 675–687.
- (13 Matson, K.D., Horrocks, N.P., Versteegh, M.A. and Tieleman, B.I. (2012). Baseline haptoglobin concentrations are repeatable and predictive of certain aspects of a subsequent experimentally-induced inflammatory response. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 162, 7–15.
- (14 Ozmen, M.M., Zulfikaroglu, B., Col, C., Cinel, I., Isman, F.K., Cinel, L. and Besler, T.H. (2009). Effect of increased abdominal pressure on cytokines (IL1 beta, IL6, TNFalpha), C-reactive protein (CRP), free

radicals (NO, MDA), and histology. Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech. 19, 142–147.

(15 Peñallillo, A. K., Sepulveda, M. A., Palma, C. J., Espinoza, A., Aguilera, M., Burgos, R. A., Carretta, D., Islas, A., & Pérez, R. (2016). Haematological and blood biochemical changes induced by the administration of low doses of Escherichia coli lipopolysaccharide in rabbits. Archivos de Medicina Veterinaria, 48 (3), 315–320.

(16 Penteadó, A.S., Ugrinovich, L.A., Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Andrade, J.R., Correa, S.S. and Pestana De Castro, A.F. (2002). Serobiotypes and virulence genes of Escherichia coli strains isolated from diarrheic and healthy rabbits in Brazil. Vet. Microbiol. 89, 41–51.

(17 Petersen, H.H., Nielsen, J.P. and Heegaard, P.M. (2004). Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. Vet. Res. 35, 163–187.

(19 Reed, L. J., & Muench, H. (1938). "A simple method of estimating fifty percent endpoints". American Journal of Epidemiology, 27(3), 493–497

- (20 Rifai, N., Tracy, R. P., & Ridker, P. M. (1999). Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. ,Clinical Chemistry, 45 (12), 2136-2141
- (21 Sheriff, A., Kayser, S., Brunner, P. and Vogt, B. (2021). C-reactive protein triggers cell death in ischemic cells. Front. Immunol. 12, 630430.
- (22 Smith, J. A., & Johnson, B. C. (2018). The use of sodium bicarbonate to neutralize gastric acid in experimental models. ,Journal of Experimental Animal Science, 45, 123-130
- (23 Sproston, N. R., & Ashworth, J. J. (2018). Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. Frontiers in Immunology, 9, 754 .
- (24 Swennes, A.G., Buckley, E.M., Parry, N.M., Madden, C.M., Garcia, A., Morgan, P.B., Astrofsky, K.M. and Fox, J.G. (2012). Enzootic enteropathogenic Escherichia coli infection in laboratory rabbits. J. Clin. Microbiol. 50, 2353-2358.
- 25) Wang, J., Ni, X., Wen, B., Zhou, Y., Liu, L., Zeng, Y., Zhao, W., Khalique, A., Wang, P., Pan, K., Yu, Z., Jing, B., Liu, H. and Zeng, D. (2020). Bacillus strains improve growth performance via enhancing

digestive function and anti-disease ability in young and weaning rex rabbits. Appl. Microbiol. Biotechnol. 104, 4493–4504.

تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدحام القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة

أ.د. حسان فرح**

أحمد حامد*

الملخص:

هدف البحث: تقييم تأثير تطبيق تطبيق حقن البلازما الغنية بالصفائح بهدف تسريع علاج ازدحام القواطع السفلية دون قلع) المعالجة بالراصفات الشفافة على مستويات الألم والانزعاج عند المرضى ودرجة تقبلهم لهذا الإجراء.

مواد وطرائق البحث: شملت عينة الدراسة 32 مريضاً بعد توزيعهم على مجموعتين: المجموعة الشاهدة : 16 مريضاً (8 أنثى و 8 ذكور) لم يتم حقن أفرادها بأي مادة مجموعة التجربة : 16 مريضاً (9 أنثى و 7 ذكور) تم إجراء حقن 0.7 مل من البلازما الغنية بالصفائح باستخدام محاقن الأنسولين ذات إبر بقياس 27 gauge على شكل حقنة لمرة واحدة في الدهليزي. يتم حقن 0.2 في اللساني لكل سن من الأسنان الأمامية بعد إجراء التخدير اللازم، وذلك قبل تطبيق الرافعة الأولى، تم علاج ازدحام القواطع السفلية لمرضى كلتا المجموعتين بالراصفات الشفافة، طلب من المرضى في كلتا المجموعتين تسجيل مستويات الألم والانزعاج من خلال استبيان يحتوي على مقياس تماثلي بصري (VAS) بقياس (100) ملم، وذلك بعد يوم، يومين، وثلاثة أيام من بدء المعالجة التقويمية تطبيق أول رافعة شفافة، مع تقديم استبيان إضافي لمرضى مجموعة البلازما الغنية بالصفائح بعد شهر يحتوي على أسئلة تتعلق بتقبلهم للإجراء.

النتائج: تم تسجيل فروق دالة إحصائية في مستويات الألم والانزعاج بين كلتا المجموعتين في جميع أوقات الاستبيان المدروسة لصالح مجموعة تطبيق حقن البلازما الغنية بالصفائح

كما أظهرت النتائج تقبل المرضى لإجراء تطبيق حقن البلازما الغنية بالصفائح.
الاستنتاجات: يعتبر حقن البلازما الغنية بالصفائح المطبق مع المعالجة التقييمية بالراصفات الشفافة بهدف تسريع علاج ازدحام القواطع السفلية دون قلع) إجراء متقبل من قبل المرضى مع مستويات من الألم والانزعاج أقل بشكل جوهري لما هي عليه في مجموعة المعالجة التقييمية بالراصفات الشفافة فقط

الكلمات المفتاحية: البلازما الغنية بالصفائح، الراصفات الشفافة، مستويات الألم والانزعاج والتقبل، ازدحام القواطع السفلية.

*طالب دكتوراه في قسم تقويم الأسنان والفكين- جامعة حماه
** أستاذ مساعد في قسم تقويم الأسنان والفكين- رئيس قسم تقويم الأسنان والفكين جامعة حماه

Evaluation of Pain and Discomfort Levels and Patient Acceptance of Platelet-Rich Plasma Application to Accelerate Treatment of Lower Incisor Crowding Managed with Clear Aligners

Ahmad Hamed*

Prof. Dr. Hassan Farah**

Abstract:

Research Objective: To evaluate the effect of injecting platelet-rich plasma (PRP) to accelerate the treatment of lower incisor crowding (without extraction) managed with clear aligners on patients' levels of pain and discomfort and their degree of acceptance of this procedure.

Materials and Methods: The study sample included 32 patients divided into two groups:

· Control Group: 16 patients (8 females and 8 males) who did not receive any injection.

· Experimental Group: 16 patients (9 females and 7 males) who received an injection of 0.7 ml of Platelet-Rich Plasma using 27-gauge insulin syringes. A single injection was administered vestibularly. A volume of 0.2 ml was injected lingually for each anterior tooth after administering the necessary local anesthesia, prior to the placement of the first aligner. Lower incisor crowding was treated with clear aligners for patients in both groups. Patients in both groups were asked to record their pain and discomfort levels using a questionnaire containing a 100-mm Visual Analogue Scale (VAS) one day, two days, and three days after the start of orthodontic treatment (placement of the first clear aligner). An additional questionnaire regarding their acceptance of the procedure was provided to the PRP group patients after one month.

Results: Statistically significant differences in pain and discomfort levels were recorded between the two groups at all studied questionnaire intervals, in favor of the PRP injection application group. The results also showed patient acceptance of the PRP injection procedure.

Conclusions: The application of Platelet-Rich Plasma injection combined with orthodontic treatment using clear aligners to accelerate the treatment of lower incisor crowding (without extraction) is a well-accepted procedure by patients, with significantly lower levels of pain and discomfort compared to orthodontic treatment with clear aligners alone.

Keywords: Platelet-Rich Plasma, Clear Aligners, Pain and Discomfort Levels and Acceptance, Lower Incisor Crowding

*PhD Student, Department of Orthodontics, Hama University

تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدحام
القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة

**Assistant Professor, Department of Orthodontics, Head of the
Department of Orthodontics, Hama University

المقدمة:

يعرّف الألم المرتبط بتقويم الأسنان على أنه إحساس غير مريح وشائع، حيث أبلغ 95% من المرضى عن شعورهم به أثناء العلاج، ويعد سبباً مهماً لعدم الرضا وحتى انسحاب ما يقرب من 30% من المرضى من العلاج (Zhu et al., 2022؛ Zheng et al., 2019).

وفي سياق متصل، يُلاحظ توجه متزايد بين البالغين للخضوع للعلاج التقويمي بدوافع جمالية واجتماعية. ومع ذلك، فإن الكثير منهم يتجنب الأجهزة التقويمية الثابتة التقليدية بسبب مظهرها غير الجمالي ومضاعفاتها المحتملة، والتي تشمل الألم، وصعوبة المحافظة على نظافة الفم، والتهاب اللثة، وتسوس الأسنان (Gandedkar et al., 2021؛ Lu et al., 2021).

كاستجابة لهذه التحديات، ظهرت تقنية الراصفات الشفافة (CAT) كحل ثوري في مجال تقويم الأسنان. تتميز هذه التقنية بمظهرها الجمالي غير المرئي وقابليتها للإزالة، مما يسهل عملية تناول الطعام والحفاظ على نظافة الفم. كما ارتبطت بمستويات أقل من الألم، وصحة فموية أفضل، ومعدلات أقل من امتصاص جذور الأسنان مقارنة بالأجهزة التقليدية (Papageorgiou et al., 2021 Li et al., 2022).

إلا أن التحدي الرئيسي لهذه التقنية يتمثل في البروتوكول الصارم الذي يتطلب ارتداء كل راصفة لمدة 20-22 ساعة يومياً، مما يؤدي غالباً إلى ضعف التزام المريض. وبالتالي، فإن مدة العلاج الطويلة وضرورة الالتزام تعدان عاملين حاسمين في قرار المرضى ببدء هذا النوع من العلاج (Weir, 2023 Tamburrino et al., 2022).

لذلك، تم تطوير تقنيات مساعدة لتسريع حركة الأسنان، وتعد الطرق المساعدة الجراحية من أكثرها دراسة وموثوقية من حيث النتائج (Awni & Nabbat, 2020). ومع ذلك، فإن الإجراءات التقليدية مثل القطع القشري لا تزال تواجه تحدياً بسبب طبيعتها التداخلية، وتكلفتها المرتفعة، وحاجتها لجراح، إضافة إلى تردد المرضى وقبولهم المنخفض للخيارات الجراحية (Al-Dbous et al., 2022).

مما دفع إلى توجّه كبير في الأبحاث الحديثة نحو تطوير إجراءات طفيفة ، تهدف إلى تحقيق فعالية مشابهة مع تقبل أعلى من قبل المرضى و minimized intervention) (Awni & Nabbat, 2020 Shahabee et al., 2020).

استخدمت العديد من الطرق لتسريع الحركة وانقاص مدة المعالجة التقويمية مثل الحقن الموضعي لبعض المواد الحيوية أو تطبيق الطرق الجراحية المتنوعة بدءاً بالقطع القشري التقليدي وانتهاء بالقطع بتقنية البيزو بدون شرائح واستخدام الليزر منخفض الطاقة لتحسين معدلات الحركة السنوية التقويمية (Li et al., 2024). مؤخراً تم استعمال تقنيات غير جراحية تعتمد على مبدأ ترميم وتجديد النسيج حول السنوية باستخدام عدة تقنيات أبرزها البلازما الغنية بالصفائح لما لها من أثر كبير في تسريع شفاء النسيج العظمية المصابة بواسطة عوامل النمو الهامة التي تحررها، حيث تعتبر البلازما الغنية بالصفائح طريقة جديدة لتجديد وشفاء النسيج حول السنوية (Zhang et al., 2023).

تم استخدام البلازما الغنية بالصفائح PRP والفبرين الغني بالصفائح PRF في تسريع الحركة التقويمية (Kim et al., 2024). تأتي الفائدة السريرية للبلازما الغنية بالصفائح كونها ذات منشأ ذاتي وسهل الحصول عليه كما يمكن الحصول عليه (Yang et al., 2023). كما أن طريقة الحقن تحت الغشاء المخاطي وضمن الرباط للبلازما الغنية بالصفائح هي طريقة فعالة ومجدية لتسريع الحركة السنوية التقويمية (Liu et al., 2024).

هدف البحث: تقييم تأثير تطبيق تطبيق حقن البلازما الغنية بالصفائح بهدف تسريع علاج ازدحام القواطع السفلية دون قلع) المعالجة بالراصفات الشفافة على مستويات الألم والانزعاج عند المرضى ودرجة تقبلهم لهذا الإجراء.

المواد والطرق:

عينة الدراسة: تألفت العينة من 32 مريضاً تم توزيعهم على مجموعتين (مجموعة البلازما الغني بالصفائح-المجموعة الشاهدة)

تم إجراء البحث في قسم تقويم الأسنان والفكين في كلية طب الأسنان بجامعة حماه، تم تسجيل القصة المرضية الكاملة والتاريخ الطبي والسني لكل مريض ضمن بطاقة فحص خاصة معتمدة من قبل قسم تقويم الأسنان والفكين في كلية طب الأسنان بجامعة حماه وتم الحصول على الموافقة المعلمة من المريض قبل العلاج.

معايير الإدخال:

1. المريض في فترة الاطباق الدائم بعمر يتراوح بين 18-25 سنة.
2. العلاقة الهيكلية من الصنف الأول.
3. العلاقات الإطباقية من الصنف الأول حسب تصنيف أنجل.
4. المريض لديه ازدحام من 4-6 مم
5. النسج العظمية حول السنية على صورة البانوراما بحالة جيدة.
6. سلامة الحالة الصحية والنفسية للمريض.
7. لا يعاني المريض من أمراض جهازية عامة.
8. لا يخضع لأي معالجة دوائية قد تؤثر على الحركة السنوية التقويمية (الكورتيزون، مضادات الالتهاب الستيروئيدية).
9. لم يخضع لمعالجة تقويمية سابقة.
10. عناية فموية جيدة.

مراحل إنجاز البحث في عينة الدراسة:

► عند الانتهاء من دراسة الحالة تم تقسيم مراحل المعالجة من خلال برنامج باستخدام خاصة Models Builder حيث اعتبرت البداية هي المثال الأولي، والحالة النهائية هي المثال المتبأ من الحاسوب حيث يتم تحريك الأسنان بمقدار 0.33 مم خلال كل مرحلة وبنتيجة الدراسة سيتم إنشاء ملف خاص بكل حالة يحتوي على مقدار الدورانات، التزوي، الإمالة، بالإضافة لمقدار السحل المينائي الواجب تطبيقه على الأسنان.

تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدحام القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة

- بعدها صدرت الأمثلة إلى طابعة ثلاثية الأبعاد مخصصة للاستخدامات السنية
Original Prusa i3 MK3 by Josef Prusa, Prague, Czech Republic
وتتطبع الأمثلة المتتابعة الخاصة بكل حالة من مادة Resin



الشكل (1) طابعة ثلاثية الأبعاد

- بعد ذلك تم صنع الرافصة باستخدام جهاز Biostar Sheu Germany
(القش، الصباغ 2019)



الشكل (2) جهاز صنع الراصفات

بعد تحضير الراصفات مخبرياً، بدأت المعالجة بإجراء السحل المينائي وفق ما تقتضيه الحالة بناء على جدول السحل المرفق مع الراصفات والنتائج من دراسة الأمثلة على برنامج 3shape (Clements *et al.*, 2003)

بروتوكول حقن البلازما الغنية بالصفائح:

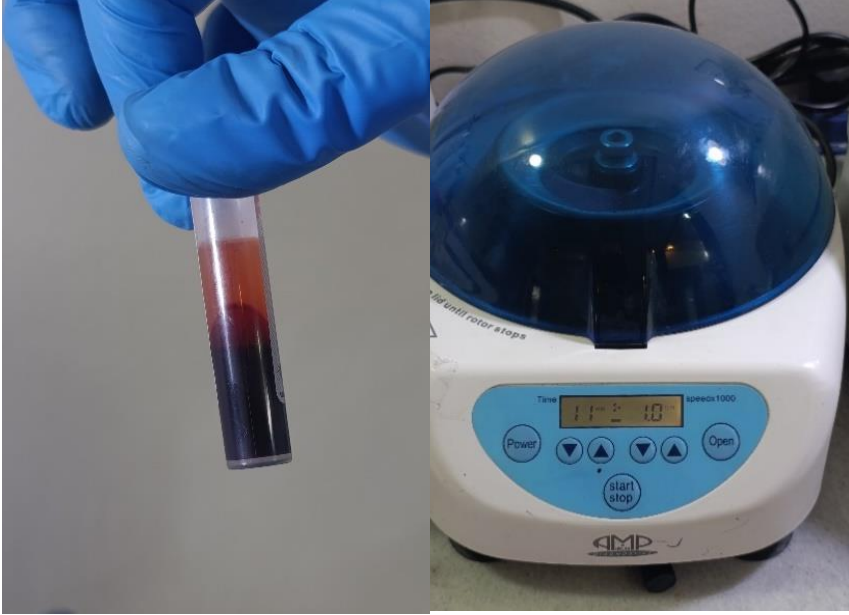
- ▶ يتم تحضير البلازما الغنية بالصفائح وفقاً لبروتوكول العالم Liou كما يلي:
- ▶ يتم سحب 60 مل من دم المريض، بالإضافة إلى 1 مل لاختبار تعداد الصفائح.
- ▶ يتم وضع الدم في أنابيب اختبار تحوي على 3 مل من سترات الصوديوم.



الشكل (3) أنابيب اختبار تحوي سترات الصوديوم

- ▶ يتم إجراء المرحلة الأولى من التنقيط بمعدل 1000 دورة/ د لمدة 12 دقيقة.
- ▶ بعد المرحلة الأولى من التنقيط ينتج لدينا 3 طبقات رئيسية:
 - 1- طبقة الكريات الحمراء في القاع.
 - 2- طبقة الصفائح في المتوسط.
 - 3- طبقة فقيرة بالصفائح في الأعلى.

تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدحام القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة



الشكل (5) أنبوب الاختبار بعد التنفيل الأول

الشكل (4) مثقلة

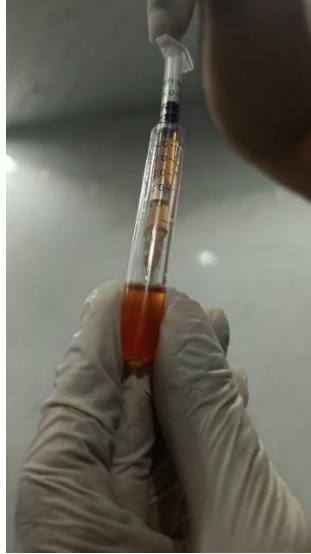
► يتم التخلص من طبقة الكريات الحمراء عن طريق سحب الطبقتين العلويتين ووضعهما في أنابيب جديدة لإجراء عملية تنفيل ثانية بمعدل 3000 دورة/ د ولمدة 8 دقائق.



الشكل (6) الطبقتان العلويتان بعد التنفيل الأول

► بعد التنفيل الثاني يتم سحب الطبقة العلوية الفقيرة بالصفائح والتخلص منها وبقية الصفائح مترسبة في الثلث السفلي من السائل وعلى جدران الأنبوب، يتم هز الأنبوب بلطف لخلط الصفائح وتجانس المكونات في الثلث الأخير من الأنبوب.

تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدحام القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة



الشكل (7) أنبوب الاختبار بعد التنقيط الثاني

- ▶ القسم الأخير المتبقي ضمن الأنبوب هو البلازما الغنية بالصفائح والذي يعد جاهزاً للحقن.
- ▶ يتم إجراء الحقن ل 0.7 مل من البلازما الغنية بالصفائح باستخدام محاقن الأنسولين ذات إبر بقياس 27 gauge على شكل حقنة لمرة واحدة في الدهليزي.
- ▶ يتم حقن 0.2 في الحنكي لكل سن من الأسنان الأمامية بعد إجراء التخدير اللازم، وذلك قبل تطبيق الرافضة الأولى. (خباز، الصباغ 2021)



الشكل (9) الحقن في اللساني



الشكل (8) الحقن في الدهليزي

الإجراءات المتبعة:

تم تطبيق تقنية الرصاصات الشفافة (شفافات تقويم الأسنان) على جميع المرضى في كل من المجموعة الشاهدة ومجموعة الدراسة. وتم اتباع الإجراءات التالية:

1. إعداد خطة العلاج: أرسلت السجلات الخاصة بكل مريض، والتي شملت:

طبغات مطاطية للقوسين السنيين العلوي والسفلي.

تسجيل للعضة (العضة الشمعية).

صور فوتوغرافية داخل فموية وخارج فموية.

صورة شعاعية سيفالومترية جانبية.

الوصفة الطبية المُعدة من قبل الباحث.

2. موافقة على خطة العلاج: تلقى الباحث من المخبر تشخيصًا مفصلاً وخطة علاج مقترحة تركز على علاج ازدحام القواطع السفلية دون الحاجة إلى قلع أسنان. وبعد الموافقة على هذه الخطة، التي تمت مراجعتها لتتوافق مع خطة العلاج المقترحة من الباحث، تم إعداد حزمة العلاج الخاصة بالمريض، والتي تضمنت مجموعة الراصفات الشفافة والملحقات الخاصة

3. السحل المينائي (IPR): تم إجراء السحل المينائي اللاصق بالمقدار وفي المواقع المحددة من قبل نظام D Aligners 3، وفقاً لخطة العلاج. استُخدمت لهذا الغرض شرائط ماسية أحادية الجانب من شركة Microdent، وتم ضبط مقدار السحل باستخدام المقياس المخصص PR Gauge المرسل من قبل الشركة.

4. تطبيق الراصفات وبروتوكول المجموعات:

المجموعة الشاهدة: تم تطبيق أول راصفة شفافة للمرضى مباشرة بعد إجراء السحل المينائي
مجموعة الدراسة: خضع مرضى هذه المجموعة للحقن بالبلازما الغنية بالصفائح مباشرة قبل تطبيق أول راصفة شفافة.

5. تعليمات المرضى: تلقى جميع المرضى في كلا المجموعتين التعليمات التالية:

ارتداء الراصفة لمدة 22 ساعة يوميًا على الأقل.

نزع الراصفة أثناء تناول الطعام أو الشراب (باستثناء الماء).

تجنب تعريض الراصفة للحرارة.

تنظيف الراصفة باستخدام فرشاة ومعجون أسنان.

معيار الانتقال إلى الراصفة التالية في السلسلة، والذي يتم عند:

غياب الفقاعات الهوائية (Air bubbles) بين الأسنان والراصفة.

غياب الفراغات بين الحواف القاطعة للأسنان والراصفة (Incisal gaps)

عدم شعور المريض بأي ضغط على الأسنان المستهدفة (القواطع السفلية) وفقاً

لخطة العلاج (استناداً إلى مراجع مثل Shipley et al., 2019).

6. المتابعة: رُوِّد كل مريض بفتح (مباعد) مزدوج، وتم توعيتهم بكيفية استخدامه. وطلب منهم إرسال صورة أمامية يومية لأسنانهم (بوضعية إطباق نصف مفتوح والراصفة موضوعة) إلى الباحث عبر تطبيق (WhatsApp (Meta Platforms, Inc.) للمراقبة والمتابعة (استناداً إلى ممارسات شائعة في الدراسات المشابهة).

الإجراءات المتبعة للمتابعة:

تمت متابعة جميع المرضى في كل من المجموعة الضابطة (الشاهدة) ومجموعة الدراسة يومياً، بدءاً من جلسة تطبيق أول راصفة شفافة، باستخدام تطبيق WhatsApp (Meta Platforms, Inc.) للأهداف التالية:

1. التذكير والتعزيز: تذكير المرضى بالالتزام بفترة الارتداء المطلقة (22 ساعة يومياً).
2. المراقبة عن بُعد: طلب إرسال صورة أمامية يومية للأسنان باستخدام فاتح الفم المزدوج. تم تقييم هذه الصور من قبل الباحث للتحقق من:

غياب الفقاعات الهوائية (Air bubbles) بين أسطح الأسنان والراصفة.

غياب الفراغات القاطعية (Incisal gaps) بين الحواف القاطعة للأسنان والراصفة.

3. بروتوكول التقييم السريري: في حال غياب العلامتين المذكورتين في الصور، يُطلب من المريض الحضور إلى العيادة في اليوم التالي لإجراء فحص سريري من قبل الباحث يشمل:

التأكد من غياب الفقاعات الهوائية والفراغات القاطعية بشكل مباشر.

الاستفسار من المريض عن عدم شعوره بأي ضغط من الرافضة على منطقة القواطع السفلية (استنادًا إلى معايير منشورة مثل Shipley et al., 2019).

في حال تأكيد حيادية الرافضة (انطباقها التام)، يتم الانتقال إلى الرافضة التالية في السلسلة.

استمرت هذه العملية اليومية من المتابعة والتقييم حتى انتهاء خطة العلاج، والذي تم تحديده بتحقيق الحيادية التامة للرافضة الشفافة الأخيرة.

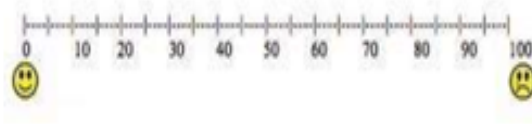
تقييم الشعور بالألم والانزعاج:

لقياس مستوى الألم والانزعاج المصاحب لإجراء سحب الدم وحقن البلازما الغنية بالصفائح، تم استخدام استبيان خاص (الشكل 10). وقد قُدِّم هذا الاستبيان لمرضى المجموعتين في اليوم الأول، والثاني، والثالث من بدء العلاج التقويمي (بعد تطبيق أول رافضة شفافة).

اشتمل الاستبيان على سؤالين رئيسيين:

1. ما مستوى الألم الذي تشعر به؟

• ما هو مقدار الألم الذي تشعر به؟



الشكل (10)

2. ما مستوى الانزعاج الذي تشعر به؟

• ما هو مقدار الإنزعاج الذي تشعر ؟



الشكل (11)

واعتمدت الإجابة على كلا السؤالين باستخدام مقياس التماثل البصري (VAS) (Breivik et al., 2008). يتكون هذا المقياس من خط أفقي طوله 100 ملم، تُحدد بدايته (0) بعدم الشعور بأي ألم أو انزعاج، بينما تُشير نهايته (100) إلى أقصى درجة ممكنة من الألم أو الانزعاج.

ولتسهيل التقييم، تم تقسيم الخط إلى تدريجات كل 10 ملم. حيث يقوم المريض بوضع علامة على الخط في الموضع الذي يعبر بدقة عن مدى شعوره. بعد ذلك، يتم قياس الطول بالمليمترات من بداية المقياس حتى العلامة التي وضعها المريض باستخدام مسطرة لتحديد النتيجة النهائية.

تقييم مدى الرضا وقبول العلاج

تم استخدام استبيان خاص (الشكل 12) لقياس مستوى الرضا وقبول العلاج المرضى الذين خضعوا لإجراء سحب الدم وحقن البلازما الغنية بالصفائح. وقد تم توزيع هذا الاستبيان على أفراد المجموعة المدروسة بعد مرور شهر واحد على إجراء سحب الدم.

تضمن الاستبيان سؤالين رئيسيين:

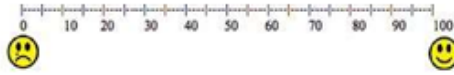
• السؤال الأول: "ما مدى رضاك عن إجراء سحب الدم وحقن البلازما الغنية بالصفائح الذي تم تطبيقه لتسريع حركة الأسنان أثناء العلاج التقويمي؟"

وتم تقييم الإجابة على هذا السؤال باستخدام مقياس التماثل البصري (VAS)، وهو نفس المقياس المستخدم في تقييم الألم.

• السؤال الثاني: "هل تتصح صديقاً لك بالخضوع لإجراء سحب الدم وحقن البلازما إذا كان يخضع لعلاج تقويمي؟"

واعتمد تقييم الإجابة على هذا السؤال باستخدام مقياس ثنائي (نعم / لا).

ما هو مقدار رضاك عن إجراء سحب الدم وحقن البلازما الغنية بالصفائح من أجل تسريع المعالجة التقويمية؟



هل تنصح صديقاً بالخضوع للإجراء السابق في سياق معالجته التقويمية؟

(1) نعم (2) لا

الشكل (12)

الدراسة الإحصائية:

تم تحليل البيانات إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي للعلوم الاجتماعية (SPSS) الإصدار 22. واعتمدت الدراسة على مستوى ثقة 95%، وتم تحديد الدلالة الإحصائية عند مستوى $(\alpha \leq 0.05)$. فإذا كانت القيمة الاحتمالية (P-value) أقل من أو تساوي 0.05، فإن الفرق يعتبر ذا دلالة إحصائية

وإذا كانت أكبر من 0.05، فإن الفرق لا يعتبر ذا دلالة، شمل التحليل الإحصائي أولاً وصفاً للمتغيرات باستخدام الإحصاء الوصفي، ثم تم فحص توزيع البيانات لتحديد ما إذا كان يتبع التوزيع الطبيعي أم لا باستخدام اختبار Anderson-Darling. حيث يدل وجود قيمة P-value أقل من أو تساوي 0.05 على رفض فرضية normality، بينما يقبل بها إذا كانت القيمة أكبر من 0.05.

ونظراً لأن بيانات الدراسة اتبعت التوزيع الطبيعي، تم استخدام الاختبارات المعلمية (Parametric Tests)، وتحديد اختبار t للعينات المستقلة (Independent Samples t-test) لتقييم دلالة الفروق بين المجموعتين.

النتائج:

بلغ المتوسط العمري للمرضى في المجموعة الشاهدة (1.5 ± 23.31 سنة) مقارنة مع
(1.4 ± 23.14 سنة) في المجموعة المدروسة مع كون الفرق في متوسط العمر غير دال
إحصائياً، إذ كانت قيمة الاحتمالية الناتجة ($p\text{-value} > 0.05$)

الجدول رقم (1) الإحصاء الوصفي لأعمار المرضى (بالسنوات) في عينة الدراسة وفقاً للمجموعة المدروسة، ونتائج اختبارات
الجوهريّة الإحصائية للفرق في متوسط العمر بين مجموعتي الدراسة

اختبار الجوهريّة الإحصائية للفرق بين المتوسطين				المجموعة المدروسة		المجموعة الشاهدة		العينة كاملة		المتغير المدرّس
الجوهريّة الإحصائية	قيمة الاحتمالية p- value	قيمة t المحسوبة	الفرق بين المتوسطين	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	
NS	0.502	0.68	0.17	0.68	23.14	0.79	23.31	0.74	23.23	العمر بالسنوات

الاختبار المستخدم ستيودنت للعينات المستقلة Independent T-Test، NS: لا توجد فروق جوهريّة إحصائياً

أظهرت نتائج اختبارات ستيودنت للعينات المستقلة بعد دراسة الألم والانزعاج بعد يوم، يومين،
ثلاثة أيام:

دراسة الألم: جميع قيم p-value أقل من 0.0001، مما يشير إلى وجود فرق ذو دلالة إحصائية
عالية بين المجموعتين لصالح مجموعة الدراسة في جميع الأوقات الزمنية الثلاثة. الفرق الأكبر

كان في اليوم الثالث (17.94 نقطة)، يليه اليوم الأول (14.25 نقطة)، ثم اليوم الثاني (13.06 نقطة).

دراسة الانزعاج: جميع قيم p-value للانزعاج أقل من 0.0001، مما يؤكد وجود فروق ذات دلالة إحصائية عالية في الانزعاج بين المجموعتين لصالح مجموعة الدراسة في جميع الأوقات الزمنية. الفرق الأكبر كان في اليوم الثالث (14.94 نقطة)، يليه اليوم الثاني (11.88 نقطة)، ثم اليوم الأول (10.50 نقطة).

الجدول رقم (2) نتائج الاختبارات للجهرية الإحصائية للفروق في متوسط قيم الألم والانزعاج بعد يوم، يومين، ثلاثة أيام من تطبيق أول راصفة شفافة بين مجموعتي الدراسة.								
اختبار الجهرية الإحصائية للفروق بين المتوسطين				المدروسة (prp) N=16		المجموعة الشاهدة N=16		المتغير المدروس
الجهرية الإحصائية	قيمة الاحتمالية P-value	قيمة t المحسوبة	الفرق بين المتوسطين	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	
*	<0.0001	24.12	14.25	1.63	39.81	1.82	54.06	الألم بعد يوم من تطبيق أول راصفة شفافة
*	<0.0001	18.74	10.50	1.63	49.94	1.82	60.44	الانزعاج بعد يوم من تطبيق

								أول راصفة شفافة
*	<0.0001	22.56	13.06	1.75	30.88	1.69	43.94	الألم بعد يوميين من تطبيق أول راصفة شفافة
*	<0.0001	20.27	11.88	1.81	35.06	1.73	46.94	الانزعاج بعد يوميين من تطبيق أول راصفة شفافة
*	<0.0001	30.89	17.94	1.52	15.19	1.88	33.13	الألم بعد 3 أيام من تطبيق أول راصفة شفافة

تقييم مستويات الألم والانزعاج وتقبل المريض المرافقة لتطبيق البلازما الغنية بالصفائح لتسريع علاج ازدحام القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة

*	<0.0001	26.18	14.94	1.47	17.94	1.85	32.88	الانزعاج بعد 3 أيام من تطبيق أول راصفة شفافة
الاختبار المستخدم: ستيوذنت للعينات المستقلة،*: يوجد فرق دال إحصائياً								

وجد أن متوسط مقدار الرضى عن إجراء سحب الدم وحقن PRP في المجموعة المدروسة بلغ (76.55 ± 11.05مم) من خلال استبيانات الرضى والتقبل المقدمة إلى المجموعة المدروسة بعد شهر من اجراء سحب الدم.

الجدول رقم(3) الإحصاء الوصفي لقيم مقدار الرضا المدروسة من خلال استبيانات الرضا والتقبل المقدمة لمرضى المجموعة المدروسة بعد شهر من إجراء سحب الدم وحقن PRP				
المجموعة المدروسة				المتغير
الحد الأعلى	الحد الأدنى	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	المدرّوس
100	50	11.05	76.55	مقدار الرضا (بالملم)

وجد أن 75% من المرضى في المجموعة المدروسة ينصحون صديق بالخضوع لهذا الإجراء في سياق معالجته التقويمية

الجدول رقم (5) توزع النسب المئوية لإجابة المرضى وفقاً للخيار المنتقى الخاص بالسؤال هل تتصح صديقاً بالخضوع لهذا الإجراء الجراحي في سياق معالجته التقويمية؟ -1 نعم -2 لا المدروس من خلال استبيانات الرضا والتقبل المقدمة لمرضى المجموعة المدروسة بعد شهر من			
المتغير المدروس		المجموعة المدروسة N=16	
		العدد	النسبة المئوية
السؤال (هل تتصح صديقاً بالخضوع لإجراء حقن PRP في سياق معالجته التقويمية)	الخيار الأول (نعم)	12	75%
	الخيار الثاني (لا)	4	25%

المناقشة Discussion:

تُحفز القوى الناتجة عن أجهزة تقويم الأسنان استجابة التهابية حادة في الأنسجة الداعمة للأسنان (Alhammadi et al., 2019). تؤدي هذه الاستجابة الالتهابية إلى إفراز وسائط كيميائية حيوية، مثل السيتوكينات والبروستاغلاندين، والتي تُعد السبب الرئيسي للألم الذي يشعر به المرضى أثناء علاج تقويم الأسنان (Krishnan, 2018).

لا يزال الألم أحد الآثار الجانبية الأكثر شيوعاً وإزعاجاً للعلاج التقويمي. تشير الدراسات إلى أن ما يصل إلى 95% من المرضى يبلغون عن الشعور بالألم في مرحلة ما خلال علاجهم، حيث تصل حدة الألم إلى درجة تدفع ما بين 8% إلى 30% من المرضى لوقف العلاج تماماً (Bergius and Kiliaridis, 2019). علاوة على ذلك، يمكن أن يعيق هذا الانزعاج قدرة المريض على الحفاظ على نظافة فموية جيدة (Tortamano et al., 2017).

لمواجهة هذا التحدي، تمت دراسة استخدام البلازما الغنية بالصفائح الدموية كأسلوب محتمل للتحكم في الألم. تعمل البلازما الغنية بالصفائح الدموية من خلال إطلاق تركيز عالٍ من عوامل النمو والسيبتوكينات المضادة للالتهابات (Andrae et al., 2020). تعمل هذه الآلية على تعديل البيئة الالتهابية، مما يخفف الألم ليس فقط عبر تسكينه، بل من خلال استهداف السبب الجذري – وهي العملية الالتهابية نفسها (Andrae et al., 2020).

يتم دعم الإمكانيات العلاجية للبلازما الغنية بالصفائح الدموية في إدارة الألم بأدلة سريرية من مجالات طبية أخرى. أظهرت الأبحاث فعاليتها في تقليل الألم في حالات مثل اعتلالات الأوتار والاضطرابات الفقرية، مما يعزز إمكانية تطبيقها في مجال تقويم الأسنان (Fitzpatrick et al., 2022). إضافة إلى ذلك، أظهرت الدراسات قبل السريرية على الحيوانات مثل الجرذان والكلاب نتائج واعدة، مؤكدة التأثير المسكن للبلازما الغنية بالصفائح الدموية في نماذج التهاب الأربطة (Yoshida et al., 2019; Cook et al., 2021).

يُمثل هذا البحث الأول من نوعه في تقييم تأثير حقن البلازما الغنية بالصفائح (PRP) على مستويات الألم والانزعاج وتقبل المرضى خلال علاج ازدحام الأسنان الأمامية السفلية دون الحاجة لخلع أي منها، باستخدام تقويم الأسنان الشفاف. وقد أظهرت النتائج أن هذه الطريقة ترتبط بمستويات أقل بشكل ملحوظ من الألم والانزعاج مقارنة بالمعالجة التقييمية التقليدية، مع تقبل أعلى بكثير من قبل المرضى.

منهجية الدراسة:

لضمان دقة النتائج، تم اختيار عينة الدراسة من مرضى تتراوح أعمارهم بين 18-25 سنة. واستُبعد المرضى الأصغر سنًا لضمان اكتمال مرحلة النمو البلوغ، كما استُبعد كبار السن لتجنب اختلافات الاستقلاب التي قد تؤثر على سرعة حركة الأسنان أو الحساسية للألم، مما يضمن تجانسًا في النضج العظمي بين أفراد العينة.

المتابعة الدقيقة:

تمت متابعة تقدم العلاج أسبوعياً بدءاً من الشهر الأول لمراقبة تطور اصطفااف الأسنان وتسويتها بدقة، وبالتالي تجنب فقدان أي تغييرات مهمة قد تؤثر على دقة النتائج وتفسيرها، وهو ما قد يحدث إذا كانت جلسات المتابعة متباعدة (كل 4 أو 6 أسابيع).

تحضير البلازما الغنية بالصفائح:

تم تحضير مادة الـ PRP من دم المريض نفسه، مع التأكد من عقامة الأدوات واتباع بروتوكول النقل المعقم. خضع الدم لمرحلتين من الطرد المركزي لتركيز أعلى عدد ممكن من الصفائح، وبالتالي الحصول على أعلى تركيز من عوامل النمو التي تسرع عملية الشفاء. استُخدمت سيترات الصوديوم كمادة مانعة للتخثر لأنها لا تؤثر على تركيز عوامل النمو. طريقة وتوقيت الحقن:

تم تحديد طريقة تحضير الـ PRP وموقع وتوقيت الحقن وفقاً لخطة علاجية محددة مسبقاً. تقييم الألم:

تم تقييم الألم المصاحب للعلاج باستخدام المقياس التماثلي البصري (VAS). ورغم أن هذا المقياس يعتمد على التقرير الشخصي للألم، إلا أنه يعتبر من أكثر الطرق موثوقية وشيوعاً في الدراسات السريرية لتسجيل شدة الألم خلال فترات زمنية محددة، خاصة عندما يكون من المتوقع وجود تباين كبير بين الأفراد، كما تم الطلب من المرضى الابتعاد عن تناول المسكنات إلا عند الضرورة القصوى.

توحيد زمن التقييم:

تم توحيد توقيت الحقن والتقييم لجميع المرضى في مجموعتي الدراسة (العلاجية و الشاهدة) لضمان تقييم دقيق، نظراً لأن الإحساس بالألم قد يتأثر بتقلبات الوقت خلال اليوم.

النتائج والتفسير:

أظهرت النتائج أن حقن الـ PRP خفض بشكل ملحوظ من مستويات الألم والانزعاج المرافقين للعلاج التقويمي مقارنة بمجموعة الدواء الوهمي. حيث سُجل أعلى متوسط للألم بعد 24 ساعة

من الحقن، ثم انخفض تدريجياً بعد يومين، ليصل إلى أدنى مستوياته بعد 3 أيام. يشير هذا إلى أن الحقن كان فعالاً في تخفيف الألم في جميع الأوقات التي تمت دراستها. المقارنة مع الدراسات السابقة:

تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة (رستكار وعجاج، 2020) التي وجدت أيضاً تأثيراً إيجابياً لل PRP في تخفيف ألم التقيوم. كما تدعمها نتائج دراسة (Yoshida et al., 2016) حول فعالية PRP في تخفيف الألم لدى مرضى التهاب الأربطة.

ويمكن تفسير هذه النتائج بقدره ال PRP على إفراز مركبات مضادة للالتهاب تعمل على عكس مسار عملية الالتهاب والألم. كما أن عوامل النمو الموجودة في البلازما تساعد على شفاء الأنسجة من خلال تغيير البيئة المحيطة بالمنطقة المعالجة، وتنظيم هجرة الخلايا الجذعية، وتحفيز العمليات الأيضية الخلوية.

من ناحية أخرى، اختلفت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (El-Timamy et al., 2020)، ويمكن عزو هذا الاختلاف إلى عوامل منهجية مثل موقع وعدد مرات الحقن. ففي هذه الدراسة، تم الحقن تحت الغشاء المخاطي من جهتي الوجه واللسان لمرة واحدة، بينما في الدراسة الأخرى تم الحقن ضمن الرباط السني - وهي طريقة أكثر إيلاًماً - وتكرر الحقن ثلاث مرات خلال مدة العلاج.

محدودية الدراسة:

لم تشمل دراستنا دراسة تأثير المسكنات على الألم والنزعاج
لم تشمل كافة الفترات العلاجية واقتصرت على الأيام الأولى (على اعتبار أن الألم غالباً ما يكون في الأيام الأولى للعلاج)

الاستنتاجات

1. تمتلك المعالجة بالبلازما الغنية بالصفائح (PRP) فعالية جيدة في إنقاص الألم والازعاج المرافق للمعالجة التقويمية وأقل بشكل جوهري لما هي عليه في المجموعة الشاهدة المعالجة بالراصفات الشفافة فقط).
2. يعتبر حقن البلازما الغنية بالصفائح المطبق بهدف تسريع علاج ازدحام القواطع السفلية المعالجة بالراصفات الشفافة إجراء متقبل بشكل كبير من قبل المرضى خاصة ضمن الفئة العمرية المدروسة.

التوصيات والمقترحات

1. استخدام البلازما الغنية بالصفائح (PRP) كوسيلة فعالة وآمنة في انقاص الألم والازعاج
2. استخدام البرتوكول المذكور في هذه الدراسة لتحضير البلازما الغنية بالصفائح (PRP) وذلك لضمان الحصول على نتائج إيجابية مشابهة.
3. تقترح إجراء دراسة لتحري تأثير تطبيق حقن البلازما الغنية بالصفائح بهدف تسريع علاج ازدحام القواطع السفلية (دون قلع) المعالجة بالراصفات الشفافة على جودة الحياة المرتبطة بالصحة الفموية.
4. تقترح إجراء دراسة سريرية مشابهة للدراسة الحالية لتقييم تأثير تطبيق حقن البلازما الغنية بالصفائح على مستويات الألم والازعاج عند مرضى لديهم أنماط أخرى من سوء الإطباق وتتم معالجتهم بالراصفات الشفافة.
5. إجراء دراسات سريرية وتسجيلية لتحديد التركيز الأمثل للصفائح المستخدمة في البلازما الغنية بالصفائح (PRP)
6. إجراء دراسة شعاعية لتحري تأثير البلازما الغنية بالصفائح على امتصاص الجذور والكثافة العظمية أثناء المعالجة التقويمية.

المراجع:

1. Al-Dbous, H., Al-Nimri, K., & Al-Dbous, H. (2022) 'Acceptance of Minimally Invasive Surgical Procedures in Orthodontics Among Patients and Practitioners: A Systematic Review', *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 14(5), pp. e456-e463.
2. Alhammadi, M.S., Halboub, E., Al-Mashraqi, A.A., Khader, M.A., Madfa, A.A., Zhu, M. and Li, C. (2019) 'Effect of platelet-rich plasma on orthodontic tooth movement in dogs', *Orthodontics & Craniofacial Research*, 22(1), pp. 39-45.
3. Alikhani, M., Raptis, M., Zoldan, B., Sangsuwon, C., Lee, Y.B., Alyass, M.A., Barrera, L.M. and Santos, A.T. (2013) 'Effect of micro-osteoperforations on the rate of tooth movement', *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 144(5), pp. 639-648.
4. Andrae, J., Galler, K.M. and Cavender, A.C. (2020) 'Biological mechanisms of orthodontic tooth movement and root resorption: A review', *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 9(3), pp. 97-105.
5. Awni, S., & Nabbat, S. (2020) 'Minimally Invasive Techniques for Accelerated Orthodontic Tooth Movement: A Systematic Review and Meta-Analysis', *Journal of Orthodontic Science*, 9(1), pp. 1-10.
6. Bergius, M. and Kiliaridis, S. (2019) 'Pain and discomfort in orthodontic patients: A systematic review of prevention and treatment', *European Journal of Orthodontics*, 41(3), pp. 215-225.
7. Cook, T., Smith, P.A., Bozynski, C.C. and Kuroki, K. (2021) 'Efficacy of Platelet-Rich Plasma in ligamentous pain models: A systematic review of animal studies', *Journal of Orthopaedic Research*, 39(8), pp. 1623-1632.
8. El-Timamy, A.M., El-Sharaby, F.A., Eid, F.A. and El-Ghafour, M.A. (2020) 'Effect of platelet-rich plasma on the rate of orthodontic tooth movement and associated pain: A randomized controlled trial', *Journal of International Oral Health*, 12(2), pp. 121-129.

9. Fitzpatrick, J., Bulsara, M.K., McCrory, P.R., Richardson, M.D. and Zheng, M.H. (2018) 'The effectiveness of platelet-rich plasma injections in gluteal tendinopathy: A randomized, double-blind controlled trial comparing a single platelet-rich plasma injection with a single corticosteroid injection', *The American Journal of Sports Medicine*, 46(4), pp. 933-939.
10. Fitzpatrick, J., Bulsara, M.K., McCrory, P.R. and Zheng, M.H. (2022) 'Platelet-Rich Plasma for the management of spinal and tendinous pain: A clinical update', *The American Journal of Sports Medicine*, 50(1), pp. 200-210.
11. Gandedkar, N.H., Vongsavan, K., & Sampson, W.J. (2021) 'Clear aligner treatment: An overview of the history, materials, clinical applications, and limitations', *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 10(3), pp. 100-113.
12. Kim, S. et al. (2024) 'Efficacy of platelet-rich fibrin in orthodontic tooth movement acceleration', *Orthodontics & Craniofacial Research*, 27(2), pp. 189-197.
13. Kisiday, J.D., Frisbie, D.D., McIlwraith, C.W. and Grodzinsky, A.J. (2012) 'Effects of platelet-rich plasma on cartilage metabolism in equine models of joint disease', *American Journal of Veterinary Research*, 73(5), pp. 610-620.
14. Krishnan, V. (2018) 'Orthodontic pain: From etiology to management. A review', *The Angle Orthodontist*, 88(2), pp. 123-134.
15. Li, R. et al. (2024) 'Advanced techniques for accelerating orthodontic tooth movement', *Seminars in Orthodontics*, 30(1), pp. 34-45.
16. Li, Y., & Deng, S. (2022) 'Pain and oral health-related quality of life in patients undergoing clear aligner and fixed appliance therapy: A systematic review and meta-analysis', *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 162(2), pp. 163-174.
17. Liou, E.J.W. (2016) 'A new bone-augmentation technique for orthodontic treatment of crowded anterior teeth', *Journal of Dental Sciences*, 11(3), pp. 320-327.

18. Liu, W. et al. (2024) 'Minimally invasive techniques for accelerating orthodontic treatment', *Frontiers in Dental Medicine*, 5, p. 1123456.
19. Lu, H., & Tang, H. (2021) 'Adult orthodontic treatment: A review of the motivations, challenges, and trends', *Journal of Dental Sciences*, 16(1), pp. 289-297.
20. Ribeiro, F.V., Casarin, R.C., Júnior, F.H.N., Sallum, E.A. and Casati, M.Z. (2016) 'The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration in periodontics', *Journal of Periodontology*, 87(8), pp. 877-884.
21. Sampson, S., Gerhardt, M. and Mandelbaum, B. (2008) 'Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review', *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine*, 1(3-4), pp. 165-174.
22. Shahabee, M., & Al-Dbous, H. (2020) 'Micro-osteoperforations as a minimally invasive procedure to accelerate orthodontic tooth movement: A systematic review and meta-analysis', *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 9(4), pp. 123-130.
23. Stinson, J.N., Kavanagh, T., Yamada, J., Gill, N. and Stevens, B. (2006) 'Systematic review of the psychometric properties, interpretability and feasibility of self-report pain intensity measures for use in clinical trials in children and adolescents', *Pain*, 125(1-2), pp. 143-157.
24. Tamburrino, F., & D'Antò, V. (2022) 'Compliance in clear aligner therapy: a systematic review', *European Journal of Orthodontics*, 44(5), pp. 500-510.
25. Tamimi, F.M., Montalvo, S., Tresguerres, I. and Blanco Jerez, L. (2007) 'A comparative study of 2 methods for obtaining platelet-rich plasma', *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 65(6), pp. 1084-1093.
26. Tortamano, A., de Salvia, A., Busato, M.C. and Dominguez, G.C. (2017) 'The impact of orthodontic pain on oral health-related quality of life: A prospective study', *Journal of Applied Oral Science*, 25(4), pp. 450-456.

27. Weir, T. (2023) 'Clear aligners: The challenges of patient compliance and the impact on treatment outcomes', *Seminars in Orthodontics*, 29(1), pp. 65-71.
28. Yang, J. et al. (2023) 'Autologous platelet concentrates in dentistry', *Platelets*, 34(3), pp. 285-294.
29. Yoshida, R., Cheng, M. and Murray, M.M. (2019) 'Analgesic effects of autologous Platelet-Rich Plasma in a canine model of ligament inflammation', *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 32(4), pp. 255-261.
30. Zhang, K. et al. (2023) 'Biological approaches to accelerate orthodontic treatment', *Journal of Dental Research*, 102(7), pp. 741-750.
31. Zheng, Y., & Li, X. (2019) 'Prevalence and severity of pain during orthodontic treatment with fixed appliances: A systematic review and meta-analysis', *Journal of Oral Rehabilitation*, 46(9), pp. 861-878.
32. Zhu, Y., & Li, X. (2022) 'The impact of orthodontic pain on patient anxiety and adherence: A longitudinal study', *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 161(5), pp. 654-662.

المراجع العربية

1. الرستكار، ع. و العجاج، م. (2020) 'تأثير البلازما الغنية بالصفائح على تسريع حركة الأسنان وتخفيف الألم في العلاج التقويمي'، مجلة طب الأسنان العراقية، (3)62، ص. 112-120.
2. السيد حسن سلطان، م. (2017) 'التباين اليومي في الإحساس بالألم: دراسة سريرية'، مجلة العلوم الطبية العربية، (1)41، ص. 45-53.
3. خباز، أ. والصباع، ر. (2021) 'تقييم فعالية حقن البلازما الغنية بالصفائح تحت الغشاء المخاطي في الحركة السنوية التقييمية في مرحلة الرصف والتنسوية'.