

مجلة جامعة البعث

سلسلة العلوم الطبية



مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 44 . العدد 5

1443 هـ . 2022 م

الأستاذ الدكتور عبد الباسط الخطيب

رئيس جامعة البعث

المدير المسؤول عن المجلة

رئيس هيئة التحرير

أ. د. ناصر سعد الدين

رئيس التحرير

أ. د. درغام سلوم

مديرة مكتب مجلة جامعة البعث

بشرى مصطفى

عضو هيئة التحرير	د. محمد هلال
عضو هيئة التحرير	د. فهد شريباتي
عضو هيئة التحرير	د. معن سلامة
عضو هيئة التحرير	د. جمال العلي
عضو هيئة التحرير	د. عباد كاسوحة
عضو هيئة التحرير	د. محمود عامر
عضو هيئة التحرير	د. أحمد الحسن
عضو هيئة التحرير	د. سونيا عطية
عضو هيئة التحرير	د. ريم ديب
عضو هيئة التحرير	د. حسن مشرقي
عضو هيئة التحرير	د. هيثم حسن
عضو هيئة التحرير	د. نزار عبشي

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

الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة البعث

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

. هاتف / فاكس : 2138071 31 963 ++

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

. البريد الإلكتروني : [magazine@ albaath-univ.edu.sy](mailto:magazine@albaath-univ.edu.sy)

ISSN: 1022-467X

شروط النشر في مجلة جامعة البعث

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 وورد 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 (كتابية 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 البعث

- 1- دفع رسم نشر (20000) ل.س عشرون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.
- 2- دفع رسم نشر (50000) ل.س خمسون الف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .
- 3- دفع رسم نشر (200) مئتا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .
- 4- دفع مبلغ (3000) ل.س ثلاثة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.

المحتوى

الصفحة	اسم الباحث	اسم البحث
42-11	غنوة الشعار د. هاني سليم د. أمين سويد	دراسة حركيات تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية والتقليدية ومديدة التحرر
68-43	صبا الجمعة د. جمانة الصالح	تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مریضات سرطان ثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مستشفيات جامعة دمشق
84-69	طارق أحمد وليد خدام لينا النذاف	تقييم النشاط المضاد للجراثيم والسّمية الخلوية لجسيمات الفضة النانوية المصنّعة حيوياً
110-85	أ.د. منير حروفش د. علي حربا	تقييم ثلاثة بروتوكولات علاجية في تدبير التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي

دراسة حركيات تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية والتقليدية ومديدة التحرر

غنوة الشعار

طالبة ماجستير مراقبة دوائية، قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية، كلية

الصيدلة جامعة البعث

د.هاني سليم

قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة، جامعة البعث

د. أمين سويد

قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية، كلية الصيدلة، جامعة البعث

الملخص

تعتبر رقابة الجودة جزء أساسي من نظام الجودة المتبع في الصناعة الصيدلانية للتأكد من أن جودة المنتج الصيدلاني محققة ومطابقة للمواصفات المحددة. يعتبر فحص الذوبان من اختبارات رقابة الجودة الهامة التي تعبر عن تحرر الدواء في الزجاج وتتنبأ بأدائه في الوسط الحي. لذلك تم في هذا البحث دراسة نماذج حركيات التحرر في الزجاج للميتفورمين هيدروكلوريد كنموذج دوائي من المضغوطات الطافية المحضرة مخبرياً، ومقارنتها مع المضغوطات التقليدية لشركتين محليتين (A, B)، والمضغوطات مديدة التحرر لشركتين محليتين (C, D)، ومضغوطات المستحضر العالمي مديد التحرر (E). تبين من خلال النتائج تشابه تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية ومن مضغوطات المستحضر العالمي، حيث كانت تتبع نموذج Korsmeyer-Peppas في التحرر بآليتي الانتشار وتدرج السلاسل البوليميرية. بالمقابل أبدت المضغوطات التقليدية للشركتين المحليتين (A, B) تحرر فوري وكانت تتبع نموذج

Higuchi حيث يتحرر الميتفورمين منها بآلية الانتشار حسب قانون فيك. كذلك كانت نتائج فحص الذوبان للمضغوطات مدية التحرر للشركتين المحليتين (C, D) مخالفة دستورياً، وتبين أنها تتبع نموذج Korsmeyer-Peppas وتحرر الدواء بالانتشار بالنسبة للشركة C، والرتبة الأولى بالنسبة للشركة D.

الكلمات المفتاحية: مراقبة الجودة، فحص الذوبان، نماذج حركيات التحرر، ميتفورمين هيدروكلوريد، المضغوطات الطافية، المضغوطات التقليدية، المضغوطات مدية التحرر.

Study of release kinetics models of Metformin hydrochloride from floating, conventional, and extended-release tablets

Abstract

Quality control is an essential part of quality system in pharmaceutical industry, which applied to ensure the quality of pharmaceutical product and its compliance with the specified specifications. Dissolution test is one of the important quality control tests which describes the release of drug in vitro and predict its performance in vivo. So in this research, we study the release kinetics models in vitro of the Metformin hydrochloride as a model drug from floating tablets prepared in laboratory, in comparison with conventional tablets for two local pharmaceutical companies (A, B), sustained release tablets for two local pharmaceutical companies (C, D), and the branded extended release tablets (E). The results demonstrated that the release of Metformin hydrochloride was very similar from floating tablets and branded tablets, and it was following Korsmeyer – Peppas model in release by diffusion and degradation of polymeric chains. Whereas Conventional Metformin hydrochloride tablets for two local pharmaceutical companies (A, B) showed immediate release, and it was following Higuchi model where metformin is released from it by the mechanism of diffusion according to Fick's law. As well, the results of dissolution test of sustained release tablets for two local pharmaceutical companies (C, D) was unacceptable according to the pharmacopeia, and it was following Korsmeyer – Peppas model and the drug releases by diffusion for C, and First order for D.

Keywords: quality control, dissolution test, release kinetics models, Metformin hydrochloride, floating tablets, conventional tablets, sustained release tablets.

1. المقدمة:

تعتبر الجودة القضية الرئيسية في الصناعة الصيدلانية، حيث يشير مفهوم الجودة إلى توافر جميع العوامل التي تسهم بشكل مباشر أو غير مباشر في فعالية الدواء (Efficacy) وأمنية استخدامه (Safety).

يتضمن نظام الجودة عدة مفاهيم منها مراقبة الجودة Quality Control وهي عمل منظم داخل المصنع أو الشركة الدوائية، يبدأ عملياً مع تطوير المستحضر الصيدلاني، مروراً بمراحل إنتاجه، وانتهاءً بتخزينه ونقله ووصوله إلى يد المستهلك [1].

يعتبر فحص الذوبان من اختبارات مراقبة الجودة الهامة التي تطبق على المستحضرات الصيدلانية. يدرس فحص الذوبان تحرر المادة الفعالة من الشكل الصيدلاني وانحلالها في وسط التطبيق مع الزمن. يمتلك تحرر المادة الفعالة تأثير كبير على التوافر الحيوي وبالتالي على الفعالية العلاجية لذلك فإن دراسة حركيات تحرر المادة الفعالة من الشكل الصيدلاني يعتبر أمر مهم للغاية. نذكر من نماذج حركيات التحرر مايلي:

الرتبة صفر Zero Order

يعتبر ايتاء الأدوية مثالي عندما يتبع حركيات الرتبة صفر، حيث أن مستويات الأدوية في الدم تبقى ثابتة خلال فترة الايتاء [2]. يحدث تحرر الدواء وفق الرتبة صفر من شكله الجرعي عندما يتحرر بكمية ثابتة خلال الزمن بغض النظر عن كميته الموجودة ضمن الشكل الجرعي. ويشاهد عادةً في الجمل التي تعتمد على الضغط التناضحي، الأشكال عبر الجلد، المضغوطات الحاوية على أدوية ضعيفة الانحلال والأشكال الملبسة [3,4].

الرتبة الأولى First Order

تصف تحرر الدواء من النظام عندما يتحرر بنسبة ثابتة متعلقة بكميته المتبقية ضمن شكله الجرعي. ويشاهد عادةً في الجمل المسامية المحملة بأدوية منحلة في الماء [5,3,2].

نموذج هيغوشي Higuchi model

يحدث التحرر في هذا النموذج عندما يتحرر الدواء بالانتشار اعتماداً على قانون فيك، وبحيث يكون مرتبطاً بالجذر التربيعي للزمن، ويُشترط لتطبيقه تجانس توزيع الدواء ضمن القالب المنتفخ. يشاهد عادةً في الجمل غير الذوابة (الصلبة ونصف الصلبة) [3,2].

نموذج كورسماير بيباس Korsmeyer – Peppas

يصف هذا النموذج آلية تحرر الدواء من الجمل البوليميرية بالتحديد سواءً كانت منتفخة أو غير منتفخة. وتستخدم عندما تكون آلية تحرر الدواء من شكله الجرعي غير معروفة بشكل دقيق، أو أنه تشترك أكثر من آلية واحدة في عملية تحرر الدواء [8,7,6,3].

يُطبق فحص الذوبان على العديد من الأشكال الصيدلانية الفموية الصلبة، منها الأشكال الجرعية آنية التحرر Immediate-Release dosage forms مثل المضغوطات التقليدية التي تحرر الدواء بشكل فوري. كذلك يطبق فحص الذوبان على الأشكال معدلة التحرر Modified – Release dosage forms مثل المضغوطات مديدة التحرر التي تحرر الدواء بكميات قليلة خلال فترة زمنية طويلة، والمضغوطات الطافية التي تبقى طافية في المعدة وتحرر الدواء لفترة طويلة من الزمن، [9, 10].

انطلاقاً من أهمية فحص الذوبان في مراقبة جودة المستحضرات الصيدلانية، تم في هذا البحث دراسة حركيات التحرر في الزجاج للميغورمين هيدروكلوريد كنموذج دوائي من كل من المضغوطات الطافية المحضرة مخبرياً، والمضغوطات التقليدية آنية التحرر والمضغوطات مديدة التحرر لشركتين محليتين، والمضغوطات مديدة التحرر للمستحضر العالمي.

2. هدف البحث:

نظراً لأهمية فحص الذوبان كأحد اختبارات مراقبة الجودة كونه يدرس تحرر المادة الفعالة من المستحضر الصيدلاني، وبالتالي يعطي فكرة أولية عن التوافر الحيوي للدواء ضمن الجسم الحي، كان الهدف من هذا البحث دراسة حركيات تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد في الزجاج من عدة أنواع من المضغوطات هي مضغوطات طافية محضرة مخبرياً، ومضغوطات تقليدية مسوقة محلياً ومضغوطات مديدة التحرر مسوقة محلياً وعالمياً.

3. المواد والأجهزة والطرائق:

1.3. المواد:

الميتفورمين هيدروكلوريد (Aarti Drug, India)، بيكربونات الصوديوم (Lobal chem, India)، حمض الليمون (Weifang ensign, China)، شمعات المغنسيوم (Vasa, India)، تم الحصول عليها من معمل ابن حيان للصناعات الدوائية. هيدروكسي بروبيل ميتيل سيللوز HPMC K4M (Shandong head, China)، بولي فينيل بيروليدون PVP (Yuking, China)، هيدروكسيد الصوديوم NaOH 0.1N (Lords Chloro, India)، حمض كلور الماء HCl (Lords Chloro, India)، وقاء فوسفاتي (Otokemi, India)، تم الحصول عليها من معمل أفاميا للصناعات الدوائية. مضغوطات ميتفورمين هيدروكلوريد 850 mg تقليدية لشركتين محليتين (A, B)، مضغوطات ميتفورمين هيدروكلوريد 850 mg مديدة التحرر لشركتين محليتين (C, D)، مضغوطات ميتفورمين هيدروكلوريد 750 mg مديدة التحرر للمستحضر العالمي (E). جميع المضغوطات المدروسة مأخوذة من الصيدليات المحلية.

2.3. الأدوات والأجهزة:

منخل، هاون ومدقة، ورق حجمي (100) مل، ماصات (1, 10,5) مل، مزاج كهربائي (Double cone mixer)، ميزان الكتروني حساس (Precisa)، آلة ضغط

المضغوطات (Adept Mini Press)، جهاز مقياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer HITACHI)، جهاز فحص الذوبان (USP – type) (II dissolution apparatus (paddle type))، جهاز تحريك باستخدام الأمواج فوق الصوتية (Thermomac).

3.3. الطرائق:

1.3.3. تحضير مضغوطات الميتفورمين هيدروكلوريد الطافية:

حُضرت مضغوطات الميتفورمين الطافية بعبارة 850 mg وفق الصيغة الموضحة في الجدول (1) والتي تم تطويرها في تجارب أولية باستخدام تقنية الضغط المباشر.

الجدول (1): صيغة مضغوطات الميتفورمين هيدروكلوريد الطافية المُحضرة مخبرياً

المكونات	الكميات (mg)
ميتفورمين هيدروكلوريد	850
HPMC K4M	350
PVP	50
NaHCO ₃	70
Citric Acid	30
Magnesium Stearate	5

بعد تحضير هذه المضغوطات قمنا بإجراء فحص الذوبان ودراسة نماذج حركيات التحرر في الزجاج عليها وعلى المضغوطات التقليدية والمدىة المسوقة محلياً والمسوقة عالمياً.

2.3.3. فحص الذوبان:

يجرى هذا الاختبار على ست مضغوطات باستخدام جهاز المجداف II USP apparatus وفق الشروط الدستورية التالية:

✓ مضغوطات الميتفورمين الطافية

الوسط: 900 ml من حمض كلور الماء HCl 0.1N (pH=1.2)

درجة الحرارة: 37 ± 0.5 C°

سرعة الدوران: 100 دورة في الدقيقة

توضع المضغوطات ضمن وسط الذوبان، ويُسحب منه عينات حجمها 10 ml عند فواصل زمنية معينة لمدة 12 ساعة وتعوض في كل مرة بـ 10 ml من الوسط، تمدد العينات المسحوبة باستخدام NaOH (0.1 N) وتقاس الامتصاصية بعد ذلك ضمن جهاز UV عند طول موجة 232 nm [13,12,11].

✓ مضغوطات الميتفورمين التقليدية ومديدة التحرر

الوسط: 1000 ml من الوقاء الفوسفاتي (pH 6.8 ± 0.05)

درجة الحرارة: 37 ± 0.5 C°

سرعة الدوران: 100 دورة في الدقيقة

توضع المضغوطات ضمن وسط الذوبان، ويُسحب منه عينات حجمها 10 ml عند فواصل زمنية معينة لمدة 30 دقيقة بالنسبة للمضغوطات التقليدية، ولمدة 12 ساعة بالنسبة للمضغوطات المديدة، تعوض العينات المسحوبة في كل مرة بـ 10 ml من الوسط، تمدد العينات باستخدام الوقاء الفوسفاتي، وتقاس الامتصاصية بعد ذلك ضمن جهاز UV عند طول موجة 233 nm بالنسبة للمضغوطات التقليدية و 232 nm بالنسبة للمضغوطات مديدة التحرر.

يتم حساب كمية الميتفورمين المتحررة (Q%) من خلال المعادلة التالية:

$$Q\% = \frac{Au}{As} \times \frac{Cs}{Cu} \times 100$$

حيث:

A_u : امتصاصية العينة، A_s : امتصاصية الشاهد، C_s : تركيز الشاهد، C_u : تركيز

العينة

يشترط دستور الأدوية الأمريكي تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات مدية التحرر وفق معايير القبول الموضحة في الجدول 2 [14].

الجدول (2): معايير القبول الدستورية لفحص الذوبان لمضغوطات الميتفورمين هيدروكلوريد مدية التحرر

النسبة المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد (%)	الزمن (ساعة)
20-40	1
35-55	2
65-85	6
على الأقل 85	10

فيما يتعلق بالمضغوطات الطافية يمكن الاستناد إلى الحدود الدستورية للمضغوطات مديدة التحرر باعتبار الأشكال الطافية تعد من الأشكال مديدة التحرر، كما يمكن الاعتماد أيضاً على الدراسات المرجعية.

يشترط دستور الأدوية الأمريكي بالنسبة لمضغوطات الميتفورمين التقليدية أن يتحرر 75% على الأقل من الميتفورمين خلال 30 دقيقة.

3.3.3. نماذج حركات التحرر:

تمت دراسة آليات حركات تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية، التقليدية والمديدة، حيث تم تطبيق بيانات التحرر على المعادلات التالية:

الرتبة صفر Zero Order

$$Q_t = Q_0 + K_0 t$$

حيث Q_t : كمية الدواء المتحررة عند الزمن t ، Q_0 : كمية الدواء في المحلول عند زمن $t=0$ ، K_0 : ثابت حركية الرتبة صفر.

يتم رسم الخط البياني لكمية المادة الفعالة المتحررة بدلالة الزمن. [15,3,2].

الرتبة الأولى First Order

$$\text{Log } Q_t = \text{Log } Q_0 + k_1 t / 2.303$$

حيث Q_t : كمية الدواء المتحررة عند الزمن t ، Q_0 : كمية الدواء في المحلول عند زمن $t=0$ ، K_1 : ثابت حركية الرتبة الأولى.

يتم رسم الخط البياني للوغاريتم العشري للكمية المتبقية في المضغوطة بدلالة الزمن. [15,3,2].

نموذج هيغوشي Higuchi model

$$Q_t = K_h t^{1/2}$$

حيث Q_t : كمية الدواء المتحررة عند الزمن t ، K_h : ثابت حركية هيغوشي.

يتم رسم الخط البياني لكمية المادة الفعالة المتحررة بدلالة الجذر التربيعي للزمن [15,3,2].

نموذج كورسماير بيباس Korsmeyer – Peppas

$$Q_t/Q_\infty = k_{kp} \times t_n$$

حيث Q_t : كمية الدواء المتحررة عند الزمن t ، Q_∞ : كمية الدواء في المحلول عند زمن $t=\infty$ ، K_{kp} : ثابت حركية كورسماير بيباس.

يتم رسم الخط البياني للوغاريتم العشري لكمية المادة الفعالة المتحررة بدلالة اللوغاريتم العشري للزمن. [15,3,2].

- يمكن من خلال قيمة n (أس الانتشار) أن يتم تمييز آلية تحرر الدواء، لكن ينبغي للحصول على نتائج دقيقة عند حساب n أن يتم تعويض نتائج التحرر الأقل من 60% فقط ضمن المعادلة. حيث تشير قيمة n إلى الآلية التي يحدث وفقها التحرر كما هو موضح في الجدول (3): [5].

الجدول (3): آلية التحرر وفق قيمة أس الانتشار n :

أس الانتشار n	آلية تحرر الدواء
$n \leq 0.45$	Fickian ضبط التحرر بالانتشار
$0.45 < n < 0.89$	Non – Fickian (anomalous) التحرر المضبوط بالانتشار وتدرج

	السلاسل البوليميرية معاً
n = 0.89	Case-II transport التحرر من الرتبة صفر
n > 0.89	Super case-II transport تدرك سلاسل البوليمير

4. النتائج ومناقشتها:

1.4. فحص الذوبان:

يعتبر فحص الذوبان من الفحوص الأساسية والروتينية للأشكال الصلبة الفموية، حيث يُعبر عن تحرر الدواء في الزجاج ويعتبر مؤشر لتحرر الدواء في الوسط الحي، مما يساعد في اختصار دراسات التوافر الحيوي/ التكافؤ الحيوي. تعتمد العلاقة بين فحص الذوبان والأداء في الوسط الحي، على أنه قبل أن يتم امتصاص الدواء، يجب أولاً أن ينحل في الأوساط المائية للجهاز الهضمي، ونظراً لعدم وجود اختبار آخر يرتبط ارتباطاً وثيقاً بالأداء في الجسم الحي، فإن دراسات الذوبان وتحرر الدواء في الزجاج تعتبر خطوة أساسية لتطوير جميع المستحضرات الصيدلانية الفموية الصلبة والموافقة النهائية عليها [16].

- بعد إجراء هذا الاختبار على جميع المضغوطات كانت النتائج كالتالي:

أ- مضغوطات الميتفورمين الطافية:

أبدت هذه المضغوطات تحرر مديد حيث تحرر 25, 36, 67, 87% بعد 1, 2, 6, 10 ساعات على التوالي. نلاحظ من الشكل (1) أنه خلال الساعات الأولى تحرر الميتفورمين بشكل سريع، ويُعزى ذلك إلى تحرر الدواء في البداية من الطبقات القريبة لسطح المضغوطة. كذلك فإن انطلاق غاز CO₂ الناتج عن ملامسة بيكربونات الصوديوم لوسط الذوبان يؤدي إلى توسع حجم القالب وزيادة المسامية مما يسمح بزيادة

معدل تحرر الدواء. بعد ذلك ينخفض معدل التحرر، وهذا بسبب تحرر الدواء من الطبقة الداخلية للمضغوظة، وزيادة لزوجة قالب الهلام نتيجة تمييه البوليميرات المحبة للماء (PVP,HPMC) والذي ينتج عنه انخفاض معامل الانتشار الفعال للدواء وبالتالي انخفاض معدل تحرره في وسط الذوبان [19,18,17].

ب- مضغوظات الميتفورمين مديدة التحرر للشركتين المحليتين C, D:

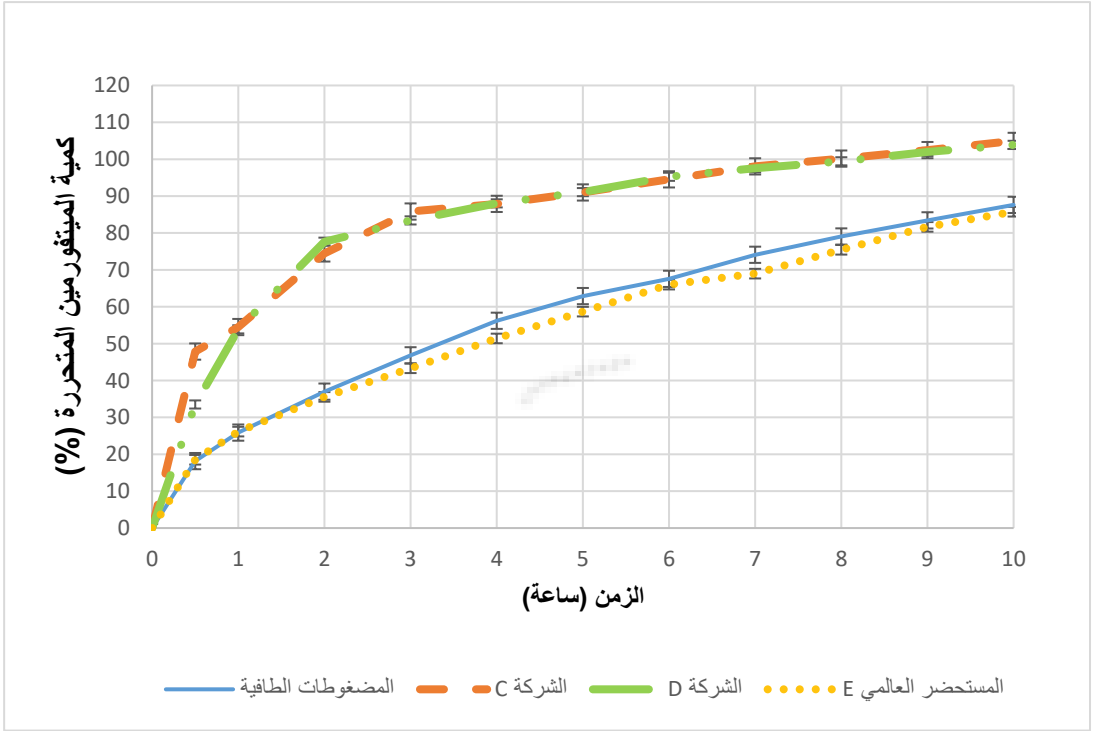
نلاحظ من الشكل (1) تحرر الميتفورمين من مضغوظات الشركة C بنسبة 54, 74, 94, 104%، ومن مضغوظات الشركة D بنسبة 53, 77, 95, 103% بعد 1, 2, 6, 10 ساعات على التوالي. وهذا لا يتوافق مع المعايير الدستورية المذكورة في الجدول (2) [14]. قد يعود ذلك إلى عدة عوامل كعدم تقيد المعامل الدوائية بشروط التصنيع الجيد خلال الأزمنة الحالية، عدم إجراء فحص الذوبان لكل طبخة دوائية، أو بسبب خلل ما في صيغة المضغوظات أو في شروط حفظها.

ج- مضغوظات الميتفورمين مديدة التحرر للمستحضر العالمي E:

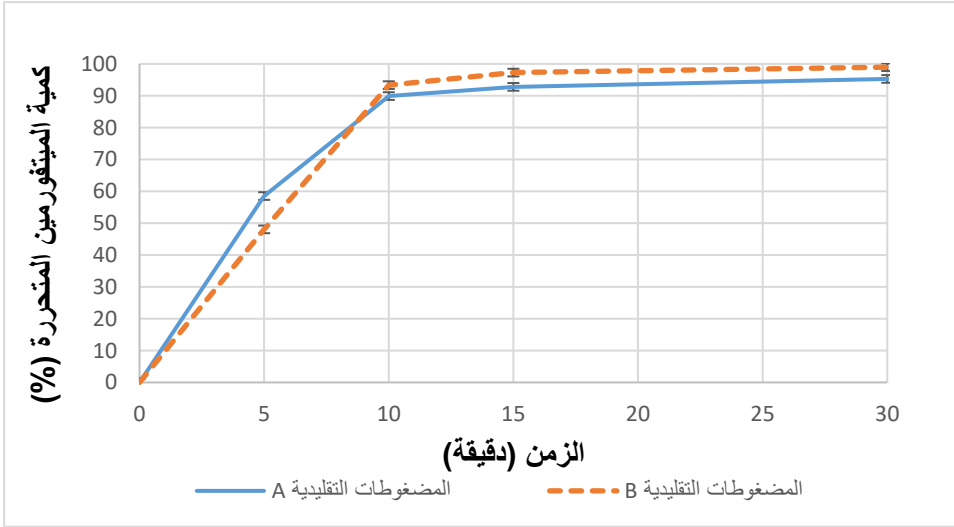
أظهرت هذه المضغوظات تحرر مديد حيث حررت كميات قليلة من الدواء خلال فترة زمنية طويلة نسبياً. بينت النتائج تحرر الميتفورمين من هذه المضغوظات بنسبة 26, 35, 66, 85% بعد 1, 2, 6, 10 ساعات على التوالي كما هو موضح في الشكل 1. وهذه النتيجة مقبولة حسب دستور الأدوية الأمريكي USP 36 [14].

د- مضغوظات الميتفورمين التقليدية A, B:

أبدت هذه المضغوظات تحرر فوري للدواء، حيث كانت النسبة المتحررة من الميتفورمين بعد 30 دقيقة 95, 98% للشركتين A, B على التوالي كما هو موضح في الشكل 2. هذه النتيجة متوافقة مع دستور الأدوية USP 36 والذي يقتضي تحرر 75% على الأقل من الميتفورمين خلال 30 دقيقة من المضغوظات التقليدية ذات التحرر الأنفي [14].



الشكل (1): كمية الميثفورمين المتحررة من المضغوطات الطاقية، والمضغوطات المديدة المحلية للشركتين (C,D)، والمستحضر العالمي (E).



الشكل (2): كمية الميتفورمين المتحررة من المضغوطات التقليدية للشركتين (A,B).

2.4. نماذج حركيات التحرر:

يمكن للنمذجة الرياضية أن تسهل بشكل كبير تحسين المنتجات الصيدلانية الموجودة وتطوير الجديد منها، فالاستخدام المنتظم للنماذج يُوفر المال والوقت. كما تساعد المناهج الرياضية الباحثين في تطوير صيغ دوائية فعالة وأساليب تجريب أكثر دقة [22,21,20].

من أجل تحديد نموذج التحرر الذي يصف تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد بالشكل الأمثل، تم تطبيق بيانات تحرر الدواء في الزجاج على معادلات التحرر من الرتبة صفر Zero order، الرتبة الأولى First order، نموذج هيغوشي Higuchi، ونموذج كورسماير بيپاس Korsmeyer – Peppas ومن ثم رسم الخطوط البيانية الموافقة.

يبين الجدول (4) قيم معاملات التحديد r^2 ، وذلك من أجل تحديد النموذج الذي يتحرر وفقه الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية، التقليدية، ومدية التحرر. يعتبر النموذج الذي يتمتع بقيمة r^2 الأعلى والأقرب إلى الواحد معبراً أكثر عن نموذج التحرر. يتضمن الجدول 4 أيضاً قيم أس الانتشار n وهو ميل معادلة Korsmeyer – Peppas، وذلك لتحديد الآلية التي يحدث وفقها التحرر.

أس الانتشار n	معامل التحديد r^2				نوع المضغوطات الطافية
	$r^2_{korsmeyer}$	$r^2_{higuchi}$	r^2_1	r^2_0	
0.5268	0.9988	0.9987	0.98	0.929	المضغوطات الطافية

الجدول (4): نتائج دراسة نماذج حركيات تحرر الميثفورمين هيدروكلوريد

0.5127	0.9982	0.9981	0.9789	0.9444	المضغوطات المديدة للمستحضر العالمي E
0.2672	0.9712	0.8935	0.9642	0.6928	المضغوطات المديدة المحلية C
0.3277	0.9169	0.8957	0.9446	0.6971	المضغوطات المديدة المحلية D
0.2629	0.7315	0.8544	0.7001	0.5678	المضغوطات التقليدية A
0.3884	0.6954	0.8588	0.8053	0.6064	المضغوطات التقليدية B

نلاحظ من الجدول السابق أن تحرر الميٲفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية والمستحضر العالمي كان يتبع نموذج Korsmeyer – Peppas والذي يتوافق مع غالبية النظم البوليميرية [3,2].

كانت قيم أس الانتشار n للمضغوطات الطافية ومضغوطات المستحضر العالمي $0.45 < n < 0.89$ ، مما يدل على اشتراك كل من آليتي الانتشار وتدرج السلاسل البوليميرية في تحرر الميٲفورمين هيدروكلوريد من هذه المضغوطات.

بالنسبة للمضغوطات مديدة التحرر للشركة المحلية (C)، تبين أن تحرر الميتفورمين منها كان يتبع نموذج Korsmeyer – Peppas، وتدل قيمة $n < 0.45$ على أن التحرر يتم بآلية الانتشار حسب قانون فيك.

فيما يتعلق بالمضغوطات مديدة التحرر للشركة المحلية (D)، فكان تحرر الميتفورمين منها يتبع الرتبة الأولى.

أما بالنسبة للمضغوطات التقليدية للشركتين (A, B)، فإن تحرر الميتفورمين منها كان وفق نموذج Higuchi بآلية الانتشار حسب قانون فيك [3,2].

5. الاستنتاجات والتوصيات:

تم في هذا البحث دراسة نماذج حركيات التحرر بعد إجراء فحص الذوبان على مضغوطات الميتفورمين هيدروكلوريد الطافية، التقليدية، ومديدة التحرر. ومن خلال النتائج تم استنتاج مايلي:

✓ تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية مشابه إلى حد كبير تحرره من المستحضر العالمي. حيث أنه كان يتبع نموذج تحرر Korsmeyer Peppas –، وآلية التحرر كانت تعتمد على الانتشار وتدرج السلاسل البوليميرية.

✓ تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات المديدة المحلية (C, D) مخالف للحدود الدستورية، وكان يتبع نموذج Korsmeyer – Peppas بالنسبة للشركة المحلية C وآلية التحرر منها تعتمد على الانتشار، بينما وفق نموذج الرتبة الأولى بالنسبة للشركة المحلية D.

✓ تحرر الميتمورمين هيدروكلوريد من المضغوطات التقليدية (A, B) مطابق للمعايير الدستورية وكان يتبع نموذج Higuchi، وآلية التحرر كانت تعتمد على الانتشار حسب قانون فيك.

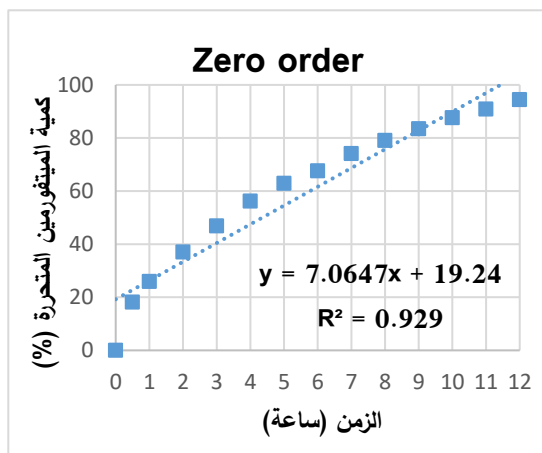
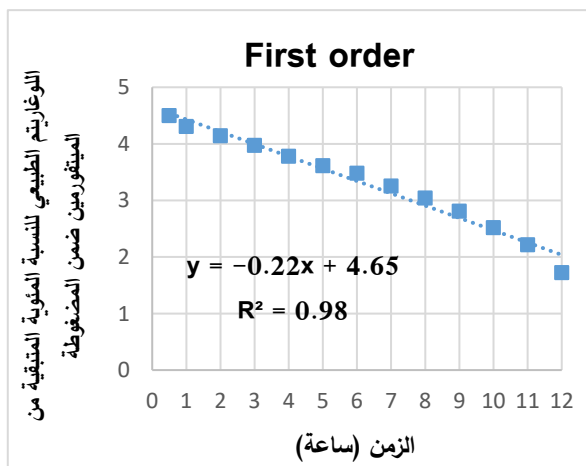
نوصي بتصنيع صيغة المضغوطات الطافية المدروسة في هذا البحث والمحضرة مخبرياً، وذلك ضمن المعامل السورية وتسويقها محلياً، وذلك نظراً لتشابه نتائج الذوبان ونماذج حركيات التحرر من هذه المضغوطات مع المستحضر العالمي حيث تعتبر بديل مناسب له. كما نوصي بتشديد الرقابة الدوائية على مضغوطات الميتمورمين المحلية مديدة التحرر بسبب خروج ماتم دراسته منها في هذا البحث عن الحدود الدستورية.

- من أجل توضيح النتائج تتضمن الملاحق في آخر المقالة الأشكال (من 3 إلى 26) التي تبين المخططات البيانية الموافقة لنماذج حركيات التحرر لجميع أنواع المضغوطات المدروسة.

الملاحق

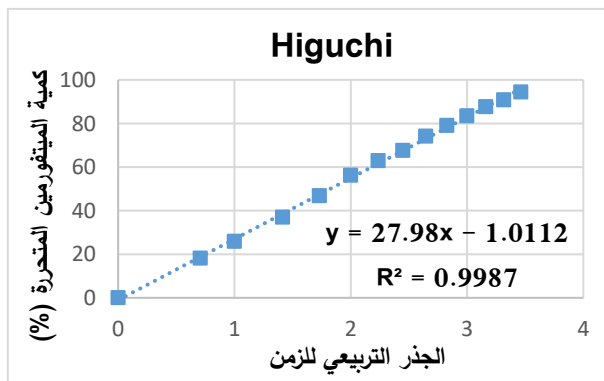
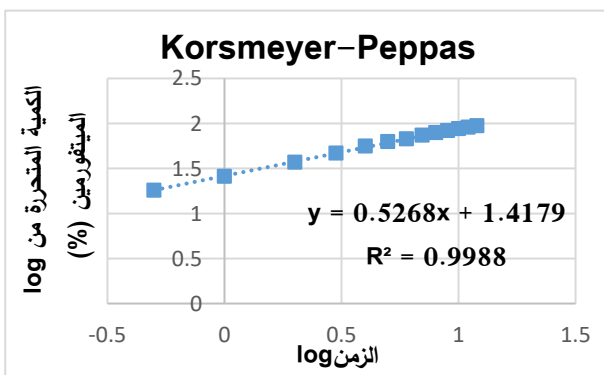
الملحق (1)

نماذج تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات الطافية



الشكل (4): الخط البياني لوغاريتم الطبيعي للنسبة المتبقية من الميتفورمين هيدروكلوريد في المضغوطة بدلالة الزمن للمضغوطات الطافية.

الشكل (3): الخط البياني للكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة الزمن من المضغوطات الطافية.



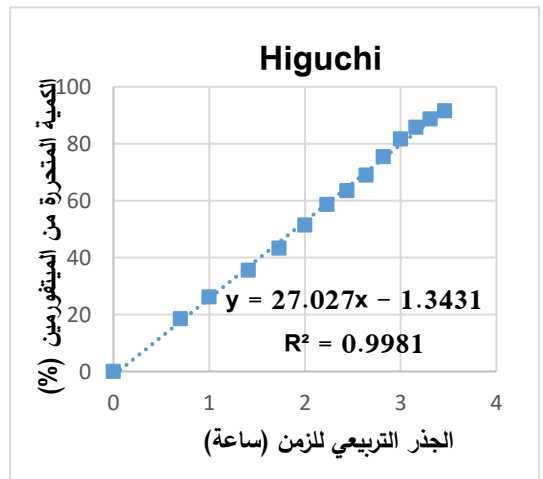
الشكل (6): الخط البياني ل log الكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة log الزمن من المضغوطات الطافية.

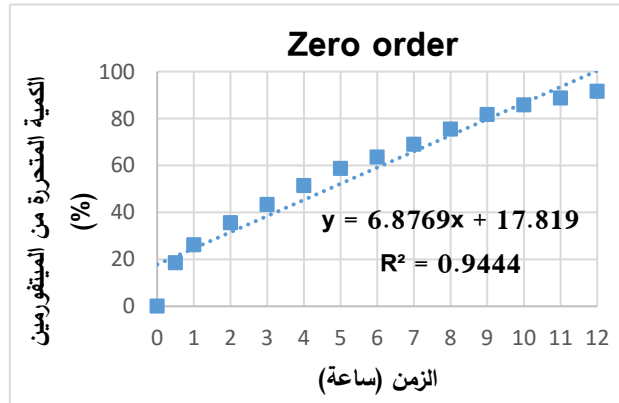
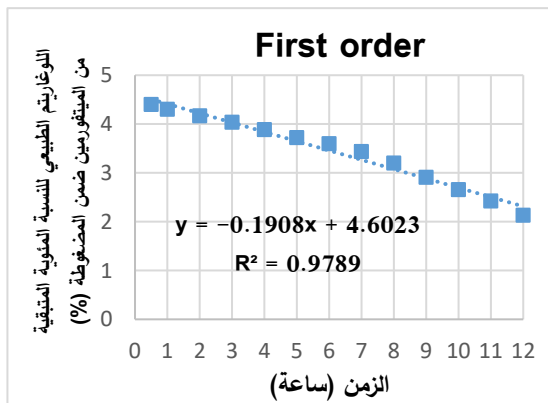
الشكل (5): الخط البياني لكمية الميتفورمين هيدروكلوريد المتحررة بدلالة الجذر التربيعي للزمن من المضغوطات

الملحق (2)

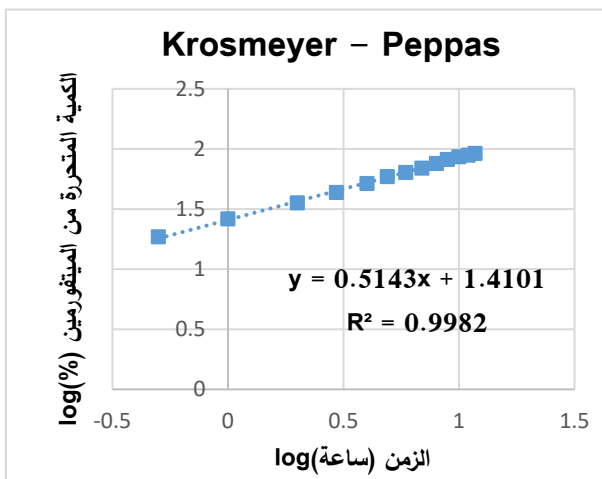
نماذج تحرر الميثفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات المدية للمستحضر العالمي

الشكل (7): الخط البياني للكمية المتحررة من الميثفورمين هيدروكلوريد بدلالة الزمن من المضغوطات المدية للمستحضر العالمي.





الشكل (8): الخط البياني للوغاريتم الطبيعي للنسبة المئوية المتبقية من الميتفورمين هيدروكلوريد في المضغوظة بدلالة الزمن للمضغوظات المديدة للمستحضر العالمي.



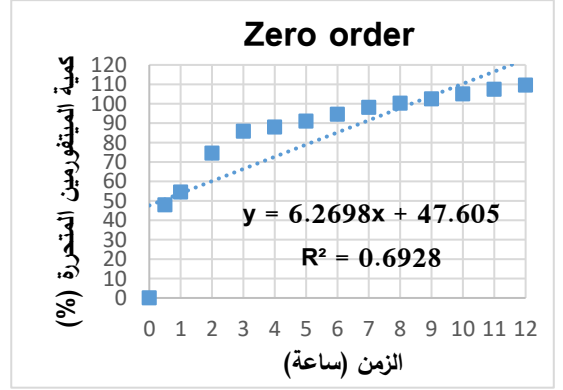
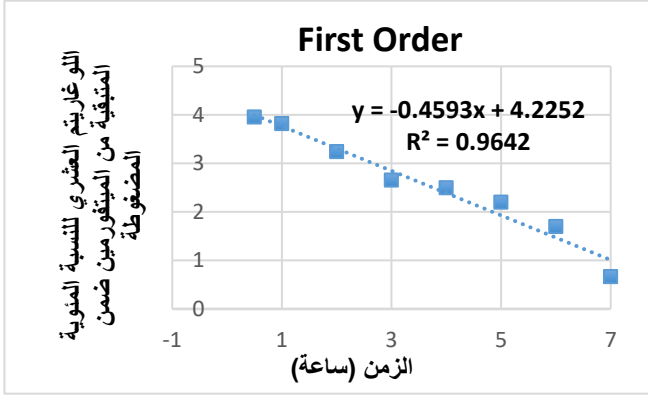
الشكل (10): الخط البياني ل log الكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة log الزمن من المضغوظات المديدة للمستحضر العالمي.

33

الشكل (9): الخط البياني لكمية الميتفورمين هيدروكلوريد المتحررة بدلالة الجذر التربيعي للزمن من المضغوظات المديدة للمستحضر العالمي.

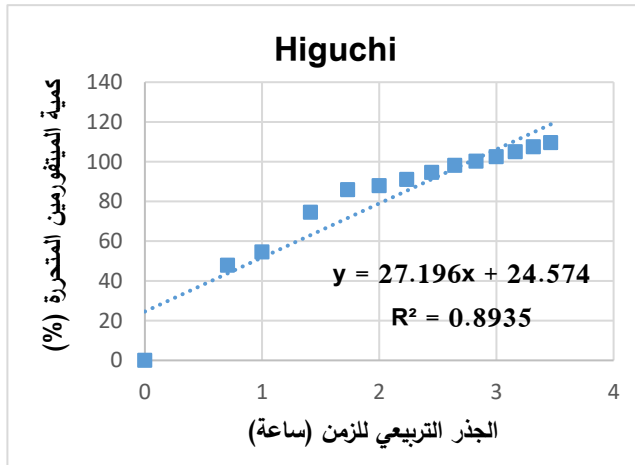
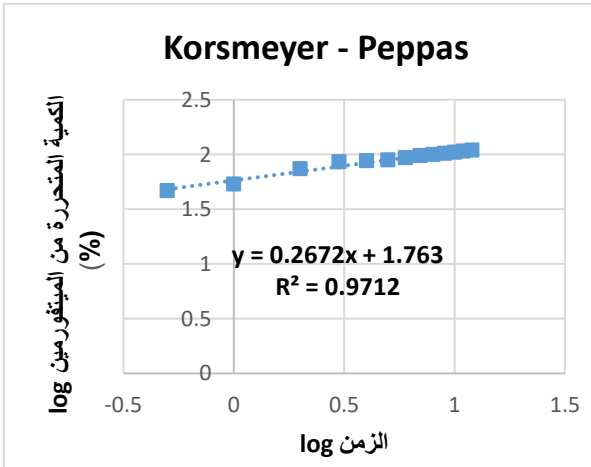
الملحق (3)

نماذج تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات المديدة المحلية (C, D)



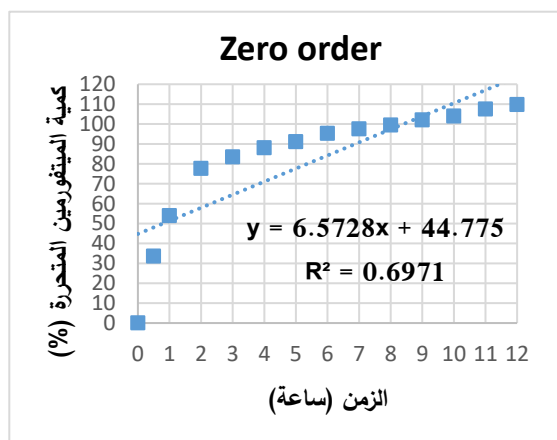
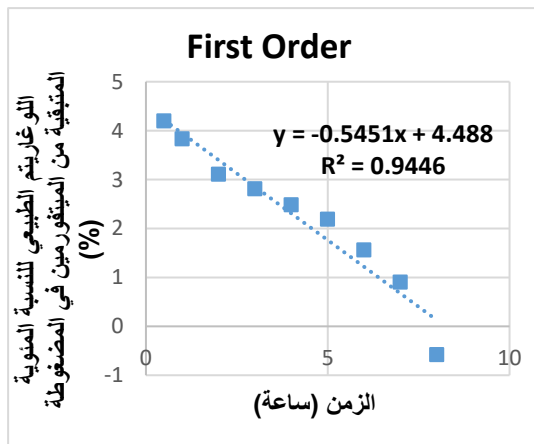
الشكل (12): الخط البياني للوغاريتم الطبيعي للنسبة المتبقية من الميتفورمين هيدروكلوريد في المضغوظة بدلالة الزمن للمضغوظات المديدة المحلية C.

الشكل (11): الخط البياني للكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة الزمن من المضغوظات المديدة المحلية C.



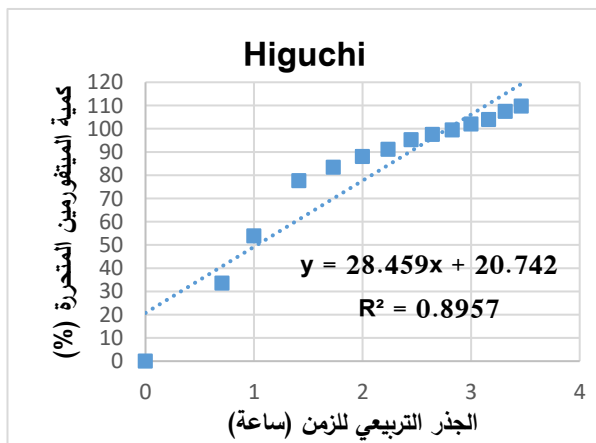
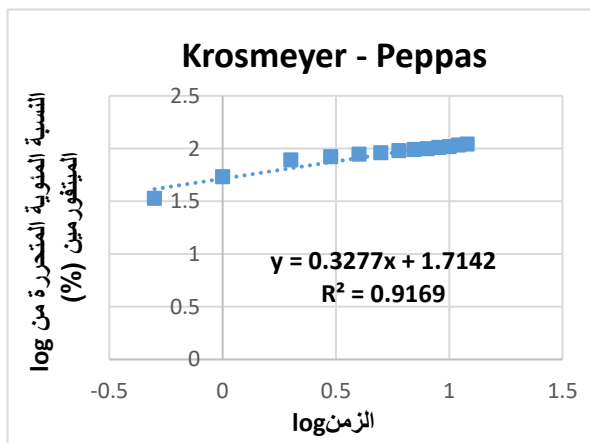
الشكل (14): الخط البياني ل log الكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة log الزمن من المضغوظات المديدة المحلية C.

الشكل (13): الخط البياني لكمية الميتفورمين هيدروكلوريد المتحررة بدلالة الجذر التربيعي للزمن من المضغوظات المديدة المحلية C.



الشكل (16): الخط البياني لوغريتم الطبيعي للنسبة المئوية المتبقية من الميتفورمين هيدروكلوريد في المضغوطة بدلالة الزمن للمضغوطات المديدة المحلية D.

الشكل (15): الخط البياني للكمية المتحللة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة الزمن من المضغوطات المديدة D.

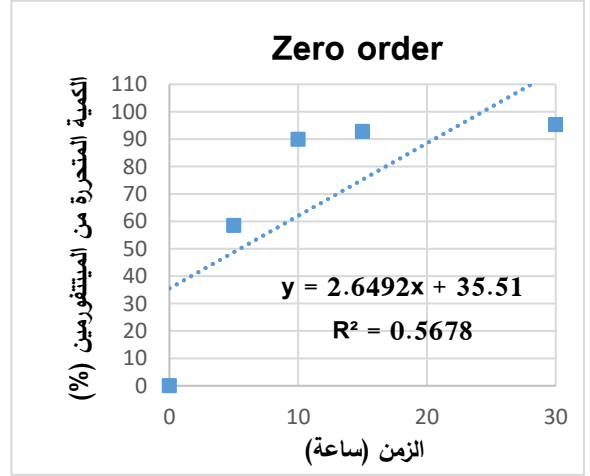
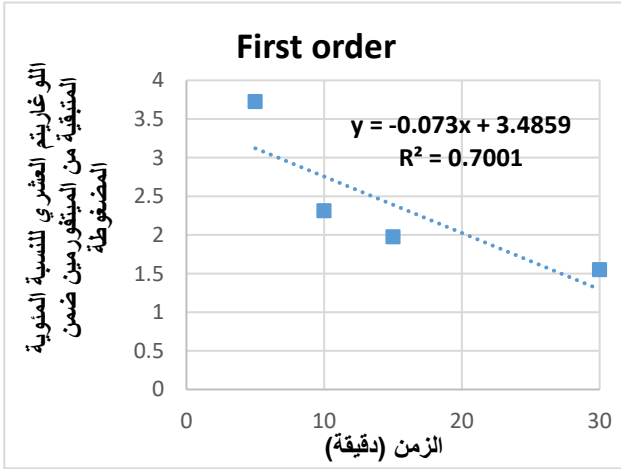


الشكل (18): الخط البياني ل log الكمية المتحللة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة log الزمن من المضغوطات المديدة المحلية D.

الشكل (17): الخط البياني لكمية الميتفورمين هيدروكلوريد المتحللة بدلالة الجذر التربيعي للزمن من مضغوطات المديدة D.

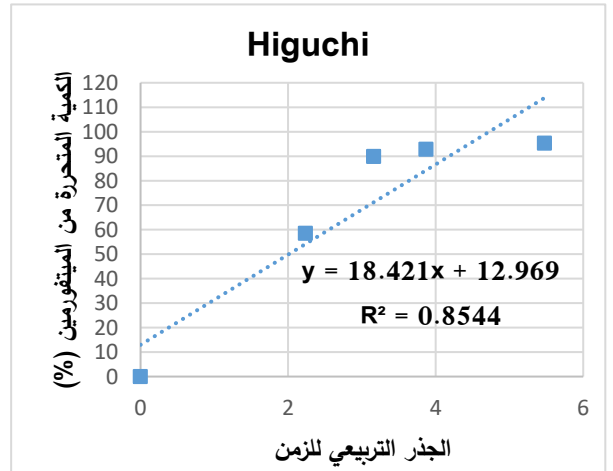
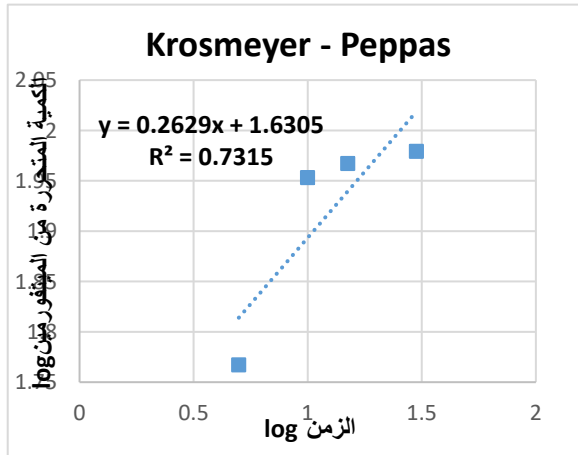
الملحق (4)

نماذج تحرر الميتفورمين هيدروكلوريد من المضغوطات التقليدية (A,B)

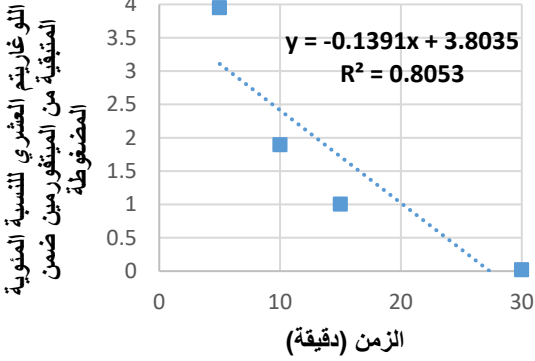


الشكل (20): الخط البياني لوغاريتم الطبيعي للنسبة المئوية المتبقية من الميتفورمين هيدروكلوريد في المضغوظة بدلالة الزمن للمضغوظات التقليدية A.

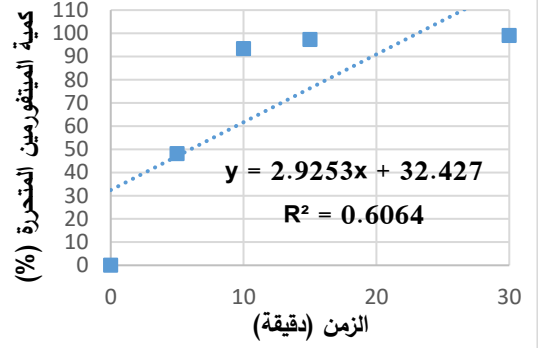
الشكل (19): الخط البياني للكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة الزمن من المضغوظات التقليدية A.



First order



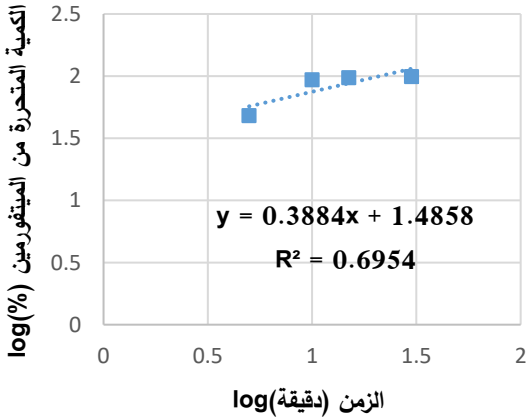
Zero order



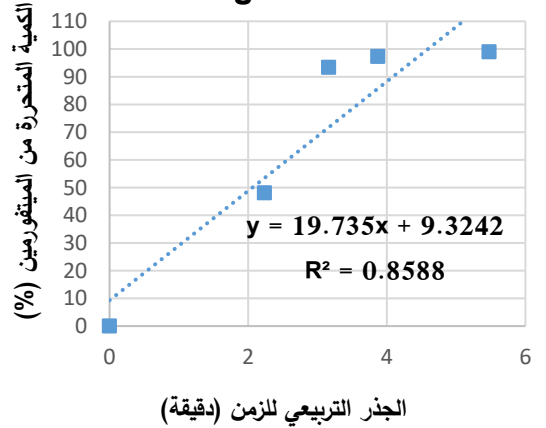
الشكل (24): الخط البياني لوغريتم الطبيعي للنسبة المئوية المتبقية من الميتفورمين هيدروكلوريد في المضغوظة بدلالة الزمن للمضغوظات التقليدية B.

الشكل (23): الخط البياني للكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة الزمن من المضغوظات التقليدية B.

krosmeyer Peppas



Higuchi



الشكل (22): الخط البياني ل log الكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة log الزمن من المضغوظات التقليدية A.

الشكل (21): الخط البياني لكمية الميتفورمين هيدروكلوريد المتحررة بدلالة الجذر التربيعي للزمن من المضغوظات التقليدية A.

6. المراجع:

- [1] Dr. Mohammed.Amer.ALmardini, 2008– Quality control book, Damascus university. (In Arabic).
- [2] Singhvi, G., & Singh, M,2011– In-vitro drug release characterization models. Int J Pharm Stud Res, 2(1), 77–84.
- [3] Paarakh, M. P., Jose, P. A., Setty, C. M., & Christoper, G. P. (2018). Release kinetics–concepts and applications. Int J Pharm Res Technol, 8(1), 12–20.
- [4] Varelas, C. G., Dixon, D. G., & Steiner, C. A. (1995). Zero–order release from biphasic polymer hydrogels. Journal of controlled release, 34(3), 185–192.
- [5] Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. Acta Pol Pharm, 67(3), 217–223.
- [6] R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas, “Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers”, Int J Pharm, 15: 25–35 (1983).

[7]

الشكل (26): الخط البياني ل \log الكمية المتحررة من الميتفورمين هيدروكلوريد بدلالة \log الزمن من المضغوطات التقليدية B.

الشكل (25): الخط البياني لكمية الميتفورمين هيدروكلوريد المتحررة بدلالة الجذر التربيعي للزمن من المضغوطات التقليدية B.

Ritger,

- P. L., & Peppas, N. A. (1987). A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. Journal of controlled release, 5(1), 37–42.
- [8] Korsmeyer, R. W., & Peppas, N. A. (1984). Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. III. Drug release from glassy poly (HEMA-co-NVP) copolymers. Journal of Controlled Release, 1(2), 89–98.
- [9] BHANDWALKAR, M. J., DUBAL, P. S., TUPE, A. K., & MANDRUPKAR, S. N, 2020– REVIEW ON GASTRORETENTIVE DRUG DELIVERY SYSTEM. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 38–45.
- [10] Mayavanshi, A. V., & Gajjar, S. S, 2008– Floating drug delivery systems to increase gastric retention of drugs: A Review. Research Journal of Pharmacy and Technology, 1(4), 345–348.
- [11] Patel, M. B., Shaikh, F. A. R. H. A. T. J. A. H. A. N., Patel, V., & Surti, N. I. 2016– Controlled–release effervescent floating matrix tablets of metformin using combination of polymers. Int J Pharm Pharm Sci, 8(11), 114–9.
- [12] Costa, P., & Lobo, J. M. S, 2001– Modeling and comparison of dissolution profiles. European journal of pharmaceutical sciences, 13(2), 123–133.
- [13] Yuksel, N., Kanık, A. E., & Baykara, T, 2000– Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA–based, model–

- dependent and-independent methods. International journal of pharmaceutics, 209(1-2), 57-67.
- [14] United State Pharmacopeia 36.
- [15] Kalam, M. A., Humayun, M., Parvez, N., Yadav, S., Garg, A., Amin, S., ... & Ali, A. (2007). Release kinetics of modified pharmaceutical dosage forms: a review. Cont J Pharm Sci, 1(1), 30-5.
- [16] Uddin, R., Saffoon, N., & Sutradhar, K. B. ,2011-Dissolution and dissolution apparatus: a review. Int J Cur Biomed Phar Res, 1(4), 201-207.
- [17] Gharti, K. P., Budhathoki, U., Thapa, P., & Bhargava, A,2012- Formulation in vitro evaluation of floating tablets of hydroxypropyl methylcellulose and polyethylene oxide using ranitidine hydrochloride as a model drug. Journal of Young Pharmacists, 4(4), 201-208.
- [18] Dhawan, S., Varma, M., & Sinha, V. R. ,2005- High molecular weight poly (ethylene oxide)-based drug delivery systems: Part I: Hydrogels and hydrophilic matrix systems. Pharmaceutical technology 29(5), 72-80.
- [19] Lundberg, Per Johan, and Mikael Thune,2001 -Multiple unit effervescent dosage form, U.S. Patent No. 6,284,271. 4 Sep.
- [20] Ramteke, K. H., Dighe, P. A., Kharat, A. R., & Patil, S. V.,2014- Mathematical models of drug dissolution: a review. Sch. Acad. J. Pharm, 3(5), 388-396.

- [21] Shaikh, H. K., Kshirsagar, R. V., & Patil, S. G. ,2015–
Mathematical models for drug release characterization: a
review. World J. Pharm. Pharm. Sci, 4(4), 324–338.
- [22] Suvakanta Dash,2010– Kinetic modeling on drug release from
controlled drug delivery system, Acta Polonia Pharmaceutical–
drug research, 67: 217–223.

تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان ثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مستشفيات جامعة دمشق ط. صبا نزار الجمعة

اشراف د. جمانة الصالح

صيدلة دمشق

المرجعية العلمية:

تُشخَّص إصابة أكثر من 1.5 مليون امرأة بسرطان الثدي عالمياً كل عام، وتشير تقديرات منظمة الصحة العالمية لعام 2020 إلى تشخيص إصابة 2.3 مليون امرأة بسرطان الثدي، كما سُجّلت 685000 حالة وفاة على مستوى العالم.

يرتبط التعبير عن البروتين Ki67 مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة، كما يعد من المؤشرات الإنذارية لتقييم الخزعات المأخوذة من المرضى المصابين بالسرطان وخاصة سرطان الثدي، ما جعله محطّ اهتمام العديد من الدراسات.

هدف البحث:

دراسة تباين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي في مستشفيات جامعة دمشق قبل وبعد المعالجة الكيميائية، وتحري أهمية مقايسة هذه المستويات.

المواد والطرائق:

تصميم الدراسة حشدية استباقية، تضمنت 46 سيدة موزعة كما يلي: 30 مريضة مصابة بسرطان الثدي، و 6 مريضات مصابات بكتل ثدي حميدة، و 10 عينات شاهدة من سيدات أصحاء حققن معايير الإدخال بالدراسة، وقد تمت معايرة مستويات Ki67 المصلية لديهن باستخدام تقنية الإليزا (مقايسة المُمتز المناعي المرتبط بالإنزيم) ELISA، وعولجت البيانات باستخدام برنامج SPSS.

النتائج:

بينت الدراسة أن قيم Ki67 المصلية كانت مرتفعة في مصل جميع مريضات سرطان الثدي المشخصات حديثاً وقبل تلقي المعالجة الكيميائية (7.69 ± 5.09 نانوغرام/مل) سواء اللواتي احتجن إلى علاج شعاعي أو اللواتي لم يحتجن إلى تلقيه. أما بالنسبة إلى قيم Ki67 في مصل المصابات بسرطان الثدي بعد تلقي المعالجة الكيميائية، فقد تبين بأن هذه القيم ارتفعت لدى مجموعة من المريضات (23 مريضة من عينة الدراسة) بعد تلقي المعالجة الكيميائية (11.3 ± 5.95 نانوغرام/مل) مقارنة بقيمه قبل تلقي هذه المعالجة وبفارق يعد به إحصائياً ($P < 0.05$)، وتوافق هذا سريرياً مع حاجتهن إلى استكمال العلاج عبر تلقي العلاج الشعاعي، بينما تنخفض قيم Ki67 لدى المريضات اللواتي لم يحتجن إلى علاج شعاعي وتماثلن للشفاء (4.63 ± 1.12 نانوغرام/مل) مقارنة بقيمه قبل تلقي هذه المعالجة وبفارق يعد به إحصائياً ($P < 0.05$).

الخلاصة:

يمكن استخدام مستويات Ki67 المصلية معلماً يساعد على التنبؤ باستجابة مريضات سرطان الثدي للمعالجة (جراحة ثم علاج كيميائي).

كلمات مفتاحية:

سرطان الثدي -Ki67- المعالجة الكيميائية.

Determination of Serum Levels of Ki67 in Breast Cancer Patients before and after Chemotherapy in Damascus University Hospitals

Abstract

Background: More than 1.5 million women are diagnosed with breast cancer globally every year, WHO estimates in 2020 indicate that 2.3 million women have been diagnosed with breast cancer, and 685,000 deaths have been recorded worldwide.

The expression of Ki67 protein is associated with the mitotic activity of tumor cells within malignant tumors, and it is considered one of the prognostic indicators for evaluating biopsies taken from cancer patients, especially breast cancer, so many studies focused on it.

Objective: Studying the variation in serum Ki67 levels among breast cancer patients in Damascus University hospitals before and after chemotherapy and determining the significance of these levels.

Methodology: The study design was a prospective cohort study, which included 46 women distributed as follows: 30 patients with breast cancer, 6 patients with benign breast masses and 10 controls from healthy women who met the study entry criteria. Their serum Ki67 levels were assayed using ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) technique, and data were processed using SPSS software.

Results: The study that focused on the serum Ki67 levels showed that these values were elevated in the serum of all newly diagnosed breast cancer patients before chemotherapy (7.69 ± 5.09 ng/ml) regardless of the need for radiotherapy. As for the values of Ki67 in the serum of breast cancer patients after chemotherapy, it was found that these values increased in a group of patients (23 patients of the study sample) after chemotherapy (11.3 ± 5.95 ng/ml)

compared to its values before this treatment with a statistically significant ($P < 0.05$), which corresponds clinically with their need for radiotherapy. The values of Ki67 in patients who did not require radiotherapy and did recover (4.63 ± 1.12 ng/ml) decreased compared to its values before this treatment with a statistically significant difference ($P < 0.05$).

Conclusion: Serum Ki67 levels can be used as a predictor of breast cancer patients' responsiveness to conventional therapy (surgery then chemotherapy).

Keywords: Breast cancer, Ki67, chemotherapy.

مقدمة

يعدّ سرطان الثدي السرطان الأكثر شيوعاً بين النساء [1] سواء في العالم المتقدم أو الأقل تقدماً [2]، ويشكل 30% من أنواع السرطان لدى الإناث [1]. عالمياً، تُشخّص إصابة أكثر من 1.5 مليون امرأة بسرطان الثدي كل عام [3]، وتشير تقديرات منظمة الصحة العالمية لعام 2020 إلى تشخيص إصابة 2.3 مليون امرأة بسرطان الثدي، كما سُجّلت 685000 حالة وفاة على مستوى العالم [4]. وفق إحصائيات منظمة الصحة العالمية WHO لعام 2018 فإن سرطان الثدي يمثل 21.3% من مجمل السرطانات في سورية مما يجعله الأكثر شيوعاً [5]، وبحسب إحصائيات مستشفى البيروني الجامعي؛ بلغ عدد المقبولات الجدد عام 2020 من المريضات اللواتي شُخّصت إصابتهنّ بسرطان الثدي 2108 مريضة.

يرتبط التعبير عن البروتين Ki67 مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة ما يسمح باستخدامه كمسعر لمدى عدوانية الورم، كما يعتبر من المؤشرات الإنذارية لتقييم الخزعات المأخوذة من المرضى المصابين بالسرطان وخاصة سرطان الثدي. كما وجد ارتباط بين Ki67 والنقائل الورمية والمرحلة السريرية للورم، إضافةً إلى ذلك وجد أنّ التعبير عن هذا البروتين يكون أكثر ضمن النسيج الورمية التي تضم خلايا سيئة التمايز بالمقارنة مع النسيج الطبيعية [6].

المستضد Ki67 هو عبارة عن بروتين غير هستوني اكتشفه شولزير Scholzer وغيردز Gerdes عام 1983 [8] عند وضع أصداد فأرية في نواة خلية هودجكن. أجري هذا العمل بجامعة كيل في ألمانيا، ومن هنا جاءت تسميته Ki، ويشير الرقم 67 إلى رقم المستعمرة ضمن الطبق [7]. بعد عشر سنوات أجري التلوين المناعي بالأصداد للمستضد Immunostainig with antibodies Ki67، وأصبح طريقة سريعة وفعالة لتقييم نسب نمو الأورام المختلفة؛ نظراً لقدرته التفاعلية المميزة والنوعية للخلايا قيد التمايز [8].

Ki67 هو بروتين نووي يُرمّزه جين MKI67 على الصبغي العاشر (10q26)، حيث يرمّز بروتينين هما المتغايران α و β [6] بأوزان جزيئية 320 و 359 كيلو دالتون على التوالي [9].

يتراوح العمر النصفى لـ Ki67 بين 1-1.5 ساعة، ويوجد خلال كل أطوار الدورة الخلوية (G1, S, G2, M)، بينما يغيب ضمن الخلايا التي لا تنقسم (يغيب في طور G0) أما خلال الأطوار اللاحقة من الانقسام الخلوي (الطور الانتهائي telophase و طور الصعود anaphase) فيحدث انخفاض حاد في مستويات Ki67 [6]. يمكن تحري Ki67 في النواة حصراً في طور الراحة interphase، وينتقل معظم البروتين خلال الانقسام الفتيلي mitosis إلى سطح الصبغيات [10]. يمتلك بروتين Ki67 بنية مشتركة مع العديد من البروتينات الأخرى التي تلعب دوراً في تنظيم الدورة الخلوية مثل DUN و RAD، تتمثل بالمجال المترافق بشوكة الرأس fork-head associated domain.

ماتزال الأهمية الوظيفية لـ Ki67 غير واضحة، لكن توجد أدلة على أن التعبير عنه ضرورة أساسية للتقدم progression خلال دورة انقسام الخلية [10]. جعلت الدراسات الحديثة وظائف Ki67 المتعددة مفهومة أكثر، إذ يتغير موقعه في الخلية أثناء الدورة الخلوية بشكل يرتبط مع وظائف متميزة، ففي طور الراحة وفي الخلايا الطبيعية يلعب دوراً في توزيع مستضدات الكروماتين المُغاير والارتباط النوويّ له. يلعب Ki67 دوراً جوهرياً خلال الانقسام الفتيلي يتمثل في تشكيل الطبقة المحيطة بالصبغيات perichromosomal layer (PCL) التي تغطي الصبغيات المتكثفة لحمايتها من التكس أثناء هذا الانقسام [11].

تُنظّم كمية بروتين Ki67 الموجودة في أي وقت من الدورة الخلوية بشكل دقيق من خلال توازن بين التصنيع والتخريب، ويتزامن التعبير عنه مع انتقال الخلايا بين أطوار الانقسام الفتيلي، ويخضع إلى فسفرة ونزع فسفرة خلال الانقسام الفتيلي ضمن الزجاج، مما يشير إلى قابلية تخربه عبر فعالية البروتياز، كما تشير بنيته إلى أنّ السبل الحالة للبروتين تنظم التعبير عنه كتلك التي يتحكم بها معقد التنظيم cyclin B/cyclin-dependent kinase 2 [12].

اقترحت الدراسات وجود دور تنبؤي للبروتين Ki67 بحيث تتم معالجة مرضى السرطان اعتماداً على درجة التعبير عنه، في حين يمكن للمشعر الحيوي الإنذاري أن يشير إلى سير المرض المتوقع لدى مريض غير معالج، أيضاً يمكن له أن يميز فئات المرضى المؤهين للاستجابة لمعالجة ما. تزداد أهمية التقييم العلاجي للتعبير عن Ki67 مع الوقت في تقييم مدى عدوانية الأورام واختيار العلاجات المناسبة [13].

أوضحت نتائج إحدى الدراسات أنَّ مشعر انقسام الـKi67 يعد عاملاً إنذارياً مستقلاً لمعدل البقيا، كما بينت وجود ارتباط بين نسبة الخلايا الورمية الخبيثة ايجابية الـKi67 ومعدل بقيا المريض [14].

أثبتت العديد من الدراسات الأخرى بشكل مشابه إمكانية استخدام منسب Ki67 (Ki67 index) كمشعر تنبؤي في السرطان وخاصة سرطان الثدي، إذ يبدي ارتباطاً مع حجم الورم البدئي ومدى الغزو للمفاوي، ووجود النقائل، وفعالية الورم الانقسامية المقاسة برحلان الـDNA، ومدى قصر بقيا المرضى.

إضافةً إلى دور Ki67 في تحديد الإنذار، فهو أيضاً يستخدم بشكل يومي في اختيار المعالجة، فالخلايا ذات الفعالية الانقسامية الكبيرة تكون أكثر أهبةً للتأثر بالأدوية السامة للخلايا السرطانية، والمستويات العالية للـKi67 ترتبط بوجود استجابة جيدة للمعالجة الداعمة [15].

في حالة سرطان الثدي فإنَّ تدبير السرطانات شديدة الإيجابية لمستقبلات الإستروجين مع مستويات منخفضة من Ki67 يتم بشكل أفضل عبر المعالجة الهرمونية لمدة 4-8 أشهر، والمستويات القاعدية للـKi67 يمكن أن تساعد في اختيار المعالجة البدئية، فإنَّ تقييم الاستجابة العلاجية هام جداً في تدبير المريضا، كما توجد حاجة ماسة إلى مشعر موثوق لتقييم الاستجابة للمعالجة الكيميائية [16]، وأظهرت إحدى الدراسات في مشفى جامعة كارولينا في ستوكهولم بالسويد أنَّ انخفاض Ki67 عن مستوياته القاعدية بنسبة 20-25% بعد شوط وحيد من السيكلوفوسفاميد واليوروبيسين و5-فلورويوراسيل ارتبط بانخفاض خطورة نكس المرض بشكلٍ هامٍ، كما أنَّ فشل معالجة ما في تخفيض

معدل الانقسام والتمايز السرطاني يشير إلى ضرورة إجراء تغيير في الخطة العلاجية، حيث يرتبط التعبير عن البروتين Ki67 مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة ما يسمح باستخدامه كمسعر لمدى عدوانية الورم [17].

يستعمل قياس Ki67 بشكل يومي لاختيار المعالجة المناسبة، كما يقدم إمكانية قياس الاستجابة للمعالجة المُقدّمة، فلدى معظم مريضات سرطان الثدي اللاتي لا تبدين استجابة باثولوجية جيدة بعد المعالجة الكيميائية المُستحدّثة neoadjuvant chemotherapy (NAC) قد تفيد دراسة المستقبلات وKi67 في عينة الشق الجراحي surgical excision specimens في اختيار خط المعالجة التالي، ويعد قياس Ki67 وقياس التعبير عن المستقبلات في سرطان الثدي بالأهمية ذاتها في تسهيل اختيار المعالجة الجهازية المناسبة [7].

هدف البحث:

تهدف هذه الدراسة لدراسة تباين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي مشخصات حديثاً في مستشفيات جامعة دمشق قبل وبعد المعالجة الكيميائية، وتحري أهمية مقايسة هذه المستويات.

مواد وطرائق البحث:

تصميم الدراسة حشدية استباقية (إحصائية تنبؤية)، وقد شملت 46 سيدة مشاركة في البحث كُنَّ جميعاً من مراجعات مستشفيات جامعة دمشق وتراوحت أعمارهن بين 25 و65 عاماً، وتم تقسيمهن إلى ثلاث مجموعات فرعية: 1- السيدات المصابة بسرطان الثدي (30 سيدة) 2- السيدات المصابات بأورام الثدي حميدة (6 سيدات) 3- السيدات السليمات (العينات الشاهدة) (10 سيدات).

معايير الاشتمال Inclusion Criteria

• المجموعة الشاهدة:

كل أنثى سليمة غير مصابة بأي مرض تخثري أو التهابي أو مرض مناعي ذاتي أو أي سرطان.

• المجموعة المصابة:

كل أنثى مصابة بسرطان الثدي قبل البدء بعلاجها الكيميائي.

معايير الاستبعاد Exclusion Criteria

• المجموعة الشاهدة:

كل أنثى مصابة بأي مرض تخثري أو التهابي أو مناعي ذاتي أو سرطان.

• المجموعة المصابة:

✓ كل أنثى غير مصابة بسرطان الثدي أو كانت مصابة بسرطان الثدي وعولجت مسبقاً.

✓ كل أنثى مصابة بأي مرض تخثري أو التهابي أو مرض مناعي ذاتي أو أي سرطان.

أُخذت من كل سيدة اشتبته بإصابتها بسرطان الثدي عينتا دم وريدي (5 مل): الأولى قبل البدء بالمعالجة (قبل العمل الجراحي مباشرة وقبل البدء بالمعالجة الكيميائية)، والثانية (فقط من السيدات اللواتي تم تشخيصهن بالإصابة بسرطان الثدي أي لا تشمل السيدات المصابات بأورام ثدي حميدة) بعد الانتهاء من المعالجة الكيميائية (مدتها ستة أشهر حسب البروتوكول العلاجي المتبع في مستشفى البيروني الجامعي)، وذلك لمعايرة مستويات Ki67 المصلية لديهن قبل وبعد المعالجة.

جُمعت العينات من مستشفى البيروني الجامعي خلال الفترة بين 2018-2019، حيث أُخذت من كل سيدة مشاركة عينة دم وريدي (5مل) على أنبوب جاف، وذلك بعد توقيهها على الاستمارة المستتيرة، وتُركت العينات حوالي 30 إلى 60 دقيقة ومن ثم نُقلت بسرعة (1000 دورة/ الدقيقة) لمدة 15 دقيقة، ووضع المصل الناتج في أنابيب إيبندروف eppendorf محكمة الإغلاق وبعد ذلك خزنت في بنك الدم في المجمدة

بدرجة حرارة 80- درجة مئوية إلى حين إجراء المعايرة المصلية، أما بالنسبة للسيدات اللواتي شخصت إصابتهن بسرطان الثدي فتم أخذ عينة ثانية بعد انتهاء المعالجة الكيميائية، وعولجت العينة كما سبق. أجريت المعايرة المصلية باستخدام تقنية مقايصة المُمتر المناعي المرتبط بالإنزيم- الساندويش (Enzyme-) ELISA Sandwich (Linked Immunosobent Assay) باستخدام عتيدة جاهزة من شركة Sunred. Biotechnology Company (China) اعتمدت تعليمات الشركة المصنعة للكشف عن تراكيز Ki67 المصلية، وتمت قراءة الكثافة الضوئية عند طول موجة 450 nm ومن ثم حُسبت قيمة تراكيز Ki67 المصلية مقدرة بالنانوغرام/مل (ng/ml)، ثم عُولجت البيانات باستخدام برنامج SPSS-13 (SPSS, Inc., Chicago,IL)، وعُرِضت كإحصاءات وصفية بشكل نسبة مئوية ومتوسط حسابي \pm الانحراف المعياري. أُجريت التحليل وفق اختبار t-student واعتُبر المتغير ذو أهمية إحصائية عندما تكون قيمة مستوى الدلالة $P < 0.05$.

النتائج:

أجريت المعايرة المصلية لقيم Ki67 وسنورد في هذه المقالة النتائج المتعلقة بمجموعة السيدات المصابة بسرطان الثدي (30 سيدة). في سياق المعالجة احتاجت 23 مريضة مصابة بسرطان الثدي إلى معالجة شعاعية بعد المعالجة الكيميائية وفق البروتوكول العلاجي المتبع في مشفى البيروني الجامعي بينما شفيت 6 مريضات بعد إنهاء العلاج الكيميائي ودون الحاجة إلى علاج شعاعي وتعرضت مريضة واحدة للنكس (حدوث النقائل). يبين الجدول (1) قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعة مريضات سرطان الثدي والمجموعة الشاهدة والمتوسط الحسابي لهذه القيم:

الجدول (1) قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعة مريضات سرطان الثدي والمجموعة الشاهدة		
رقم العينة	قيم Ki67 المصلية (ng/ml)	
	مجموعة مريضات سرطان الثدي	المجموعة الشاهدة

	قبل المعالجة	بعد المعالجة	
1	1.5	7.55	3.28
2	1.5	7.1	5.18
3	23.71	23.75	4.57
4	23.84	23.94	5.12
5	7.96	5.84	6.75
6	7.24	4.85	5.93
7	5.66	8.77	7.11
8	5.03	7.56	4.45
9	1.97	7.55	4.26
10	2.15	7.78	7.29
11	9.22	10.23	
12	7.28	9.22	
13	4.81	5.44	
14	3.01	7.64	
15	5.93	5.98	
16	7.55	9.55	
17	7.51	9.44	
18	7.37	8.77	
19	8.32	10.53	
20	8.05	12.71	
21	7.01	9.55	
22	11.96	12.03	
23	6.02	22.49	
24	5.44	23.39	

تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في
مستشفيات جامعة دمشق

25	7.64	4.47	
26	6.43	3.32	
27	10.21	3.41	
28	10.03	5.88	
29	9.89	10.33	
30	6.43	7.33	
المتوسط الحسابي	7.689	9.88	5.394

يبين الجدول (2) متوسط قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعات الدراسة:

الجدول (2) متوسط قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعات الدراسة			
التقييم	متوسط قيم Ki67 بعد المعالجة (ng/ml)	متوسط قيم Ki67 قبل المعالجة (ng/ml)	المجموعة
ارتفاع	9.88	7.69	مجموعة مريضات سرطان الثدي الكلية (30 مريضة)
ارتفاع	11.13	7.53	مجموعة مريضات سرطان الثدي اللاتي احتجن إلى معالجة شعاعية (23 مريضة)
انخفاض	4.63	8.25	مجموعة مريضات سرطان الثدي اللاتي شفين دون الحاجة إلى معالجة شعاعية

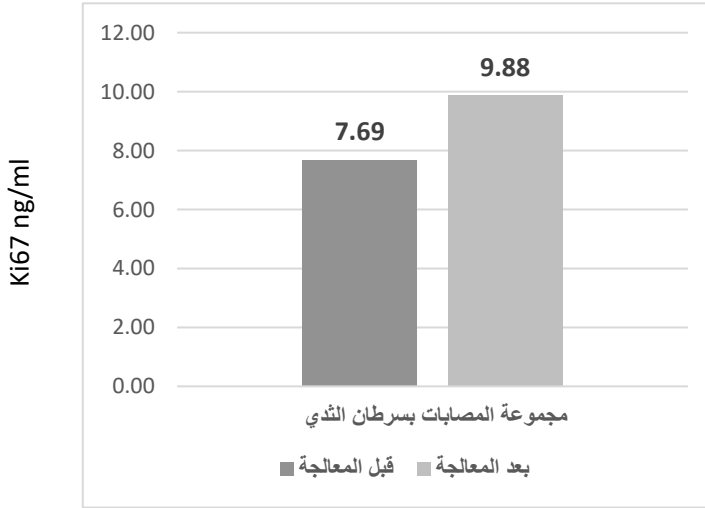
			(6 مريضات)
--	--	--	------------

1. دراسة تأثير المعالجة في قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي ومقارنتها بالمجموعة الشاهدة:

في هذا القسم سيتم دراسة الفروق في قيم Ki67 في مصل المريضاات المصابات بسرطان الثدي قبل العلاج وبعده وذلك عن طريق اختبار Wilcoxon Signed Ranked Test للتحقق من وجود اختلافات ذات دلالة إحصائية في المجموعة الواحدة ويبين الجدول (3) نتائج الاختبار:

الجدول (3) الفروق بين قيم Ki67 في مصل المريضاات المصابات بسرطان الثدي قبل وبعد العلاج الكيميائي							
جوهرية الفرق	P-value	إحصائية Z	مجموع الرتب	متوسط الرتب	عدد الرتب	المتغير المدروس: قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي	عدد المريضاات = 30
*	0.016	-	115.5	19.25	6 ^a	الرتب السالبة	قبل العلاج -
			349.5	14.56	24 ^b	الرتب الموجبة	بعد العلاج
الاختبار المستخدم: Wilcoxon Signed Ranked Test، (*): توجد فروق جوهرية عند P < 0.05							
a. قبل العلاج < بعد العلاج، b. قبل العلاج > بعد العلاج.							

تبين نتائج الجدول (3) أن معنوية الاختبار 0.016 للفروق في قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي بين مرحلتي قبل العلاج الكيميائي وبعده أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق جوهرية ذات دلالة إحصائية لدى مريضات سرطان الثدي في مرحلتي الدراسة قبل العلاج وبعده، وعند المقارنة بين عدد الرتب الموجبة والسالبة يتبين أن عدد الرتب الموجبة أكبر من السالبة ما يدل على أن قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي (في مرحلة بعد المعالجة من الدراسة) أعلى من قيم Ki67 عندهن في مرحلة قبل العلاج. يبين المخطط البياني (1) الفروق بين متوسطات قيم Ki67 لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي قبل المعالجة الكيميائية المطبقة وبعدها، حيث كانت قبل المعالجة 7.69 ng/ml أعلى مما هي عليه بعد المعالجة 9.88 ng/ml:



المخطط (1) المتوسط الحسابي لقيم Ki67 قبل المعالجة وبعدها عند المصابات بسرطان الثدي

وتمت دراسة الفرق في قيم Ki67 قبل العلاج وبعده بين المجموعة المصابة بسرطان الثدي والمجموعة الشاهدة وذلك عن طريق اختبار Kruskal-Wallis الذي يفيد في

التحقق من وجود اختلافات ذات دلالة إحصائية بين مستويات متغير ما ضمن مجموعة واحدة ، ويبين الجدول (4) نتائج الاختبار :

الجدول (4) الفروق في قيم Ki67 بين المريضاات المصاباات بسرطان الثدي ومجموعة السيداات السليماات في عينة الدراسة						
المتغير المدروس	المجموعة المدروسة	عدد المريضاات	متوسط الرتب	إحصائية كاي مربع	P-value	جوهرية الفرق
قيم Ki67 قبل المعالجة	المصابة بالسرطان	30	24.00	10.349	0.006	*
	الشاهدة	10	14.25			
قيم Ki67 بعد المعالجة	المصابة بالسرطان	30	26.20	13.054	0.001	*
	الشاهدة	10	10.40			

الاختبار المستخدم: Kruskal-Wallis ، (*): توجد فروق عند $P < 0.05$

وتبين أن معنوية الاختبار لدراسة الفرق بين المجموعة المصابة بسرطان الثدي والمجموعة الشاهدة في قيم Ki67 قبل وبعد المعالجة أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق جوهرية ذات دلالة إحصائية بين المجموعة المصابة بسرطان الثدي والمجموعة الشاهدة، وعند النظر إلى متوسط الرتب يتبين أن قيم Ki67 قبل وبعد المعالجة في مجموعة المصاباات بسرطان الثدي أعلى بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة.

2. دراسة تأثير المعالجة في قيم Ki67 في مجموعة المصاباات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيمايائي:

في هذا القسم ستم دراسة الفرق في قيم Ki67 في مصل المريضاات المصاباات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيمايائي في مرحلتي بدء العلاج

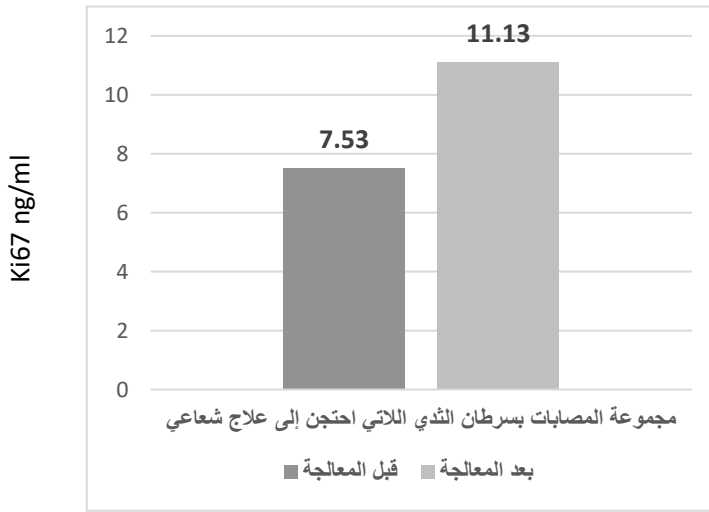
وبعده وذلك عن طريق اختبار Wilcoxon Signed Ranked Test وبين الجدول
(5) نتائج الاختبار:

الجدول (5) الفروق بين قيم Ki67 في مصل المريظات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيميائي							
جوهرية الفرق	P- value	إحصائية Z	مجموع الرتب	متوسط الرتب	عدد الرتب	المتغير المدروس: قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي. عدد المريظات = 23	
*	0.000	-	0.00	0.00	0 ^a	الرتب السالبة	قبل العلاج - بعد العلاج
			276.0	12.0	23 ^b	الرتب الموجبة	
الاختبار المستخدم: Wilcoxon Signed Ranked Test، (NS): لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية، (*): توجد فروق جوهرية عند $P < 0.05$ a. قبل العلاج < بعد العلاج، b. قبل العلاج > بعد العلاج.							

تبين نتائج الجدول (5) أن معنوية الاختبار 0.000 للفرق في قيم Ki67 عند المصابات
بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بين مرحلتي قبل العلاج الكيميائي
وبعده أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق
جوهرية ذات دلالة إحصائية لدى مريضات سرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج
شعاعي في مرحلتي الدراسة قبل العلاج وبعده، وعند المقارنة بين عدد الرتب الموجبة

والسالبة يتبين أن عدد الرتب الموجبة أكبر من السالبة أي إن قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي (في مرحلة بعد المعالجة من الدراسة) وهي 11.3 ng/ml أعلى من قيم Ki67 عندهنّ في مرحلة قبل العلاج والتي بلغت 7.53 ng/ml.

يبين المخطط البياني (2) الفروق بين متوسطات قيم Ki67 لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة:



المخطط (2) المتوسط الحسابي لقيم Ki67 قبل المعالجة وبعدها عند

المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي

3. دراسة تأثير المعالجة في قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي:

في هذا القسم سيتم دراسة الفروق في قيم Ki67 في مصل المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيميائي في مرحلتي الدراسة بدء

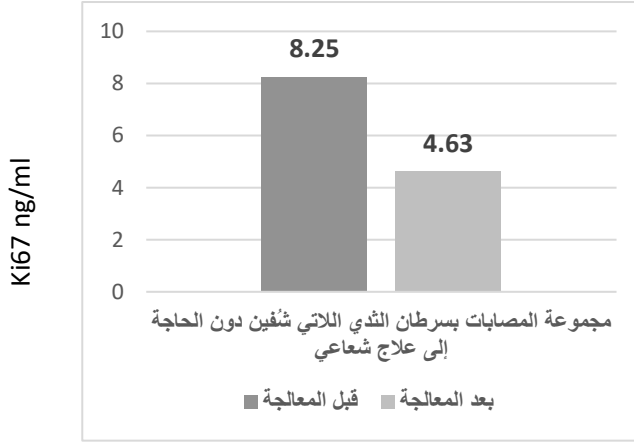
العلاج وبعده وذلك عن طريق اختبار ستودنت لعينتين مرتبطتين Paired T-Test
ويبين الجدول (6) نتائج الاختبار:

الجدول (6) الفروق بين قيم Ki67 في مصل المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفين دون الحاجة إلى علاج شعاعي												
المتغير المدرّوس	قبل العلاج			بعد العلاج			الفرق بين المتوسطين			جوهرية الفروق p-value	*	
	عدد الحالات	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	عدد الحالات	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	مجال ثقة 95% CI			t المحسوبة
قيم Ki67	6	1.5	8.25	6	1.5	4.63	1.1	3.6	1.7	5.19	0.003	*
7												

الاختبار المستخدم ستودينت للعينات المرتبطة Paired T-test,
(*): توجد فروق عند $P < 0.05$

تبين نتائج الجدول (6) أن معنوية الاختبار 0.003 لمتوسط الفرق في قيم Ki67 عند
المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفين دون الحاجة إلى علاج شعاعي بين مرحلتي قبل
وبعد العلاج الكيميائي أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95%
ويتبين وجود فروق جوهرية ذات دلالة إحصائية لدى مريضات سرطان الثدي اللاتي
شُفين دون الحاجة إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة قبل العلاج وبعده، وعند النظر
إلى إشارة الفرق بين المتوسطات يتبين أن إشارة الفرق موجبة ويدل على أن متوسط
قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفين دون الحاجة إلى علاج شعاعي
(في مرحلة قبل المعالجة من الدراسة) والتي بلغت 8.25 ng/ml أعلى من متوسط
قيم Ki67 عندهنّ في مرحلة بعد العلاج والتي بلغت 4.63 ng/ml. يبين المخطط

البياني (3) الفروق بين متوسطات قيم Ki67 لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفِين دون الحاجة إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة:



المخطط (3) المتوسط الحسابي لقيم Ki67 قبل المعالجة وبعدها عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفِين دون الحاجة إلى علاج شعاعي

مناقشة النتائج:

ترافق تزايد أعداد المصابات بسرطان الثدي سنوياً على مستوى العالم مع زيادة الأبحاث المجرة لفهم ماهيته وتطوير أساليب علاجه بهدف الوصول إلى الشفاء وخفض نسبة الوفيات، وقد حظيت متتابتات الدورة الخلوية باهتمام كبير بحكم دورها الوظيفي، واهتمت الدراسات بدورها في السرطان، لتفسير الآلية الإمبرازية أو استهداف هذه المتتابتات في سياق المعالجة لاسيما أن العلاج الكيماوي مكلف مادياً ويشتمل على الكثير من التأثيرات الجانبية التي ترهق المريضات، إلى جانب احتمال النكس بعد تلقيه وبقاء ذلك هاجساً حتى بعد انتهاء المعالجة، إيجاد معالم تفيد في التنبؤ باستجابة المريضات للعلاج يعد أمراً غاية في الأهمية.

سلّطت دراسات كثيرة الضوء على دور Ki67 في سرطان الثدي، خاصة أن قيمه النسيجية معتمدة في تقييم حالة المريضات في الممارسة السريرية، ومن خلال دراستنا التي اهتمت بمستويات Ki67 المصلية تبين أن هذه القيم مرتفعة في مصل جميع

مريضات سرطان الثدي المشخصات حديثاً وقبل تلقي المعالجة الكيميائية ($5.09 \pm$ نانوغرام/مل) سواء اللواتي احتجن لاحقاً إلى علاج شعاعي أو اللواتي لم يحتجن إلى تلقيه، وهذا يتوافق مع كون التعبير عن Ki67 يترافق مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة حيث يرتفع التعبير عنه ضمنها ما يسمح باستخدامه كمشعر لمدى عدوانية الورم.

أما بالنسبة إلى قيم Ki67 في مصل المصابات بسرطان الثدي بعد تلقي المعالجة الكيميائية، فقد تبين حسب نتائج دراستنا بأن هذه القيم ارتفعت لدى مجموعة من المريضات (23 مريضة من عينة الدراسة) بعد تلقي المعالجة الكيميائية ($5.95 \pm$ نانوغرام/مل)، وتوافق هذا سريرياً مع حاجتهن إلى استكمال العلاج عبر تلقي العلاج الشعاعي، فالخلايا غير السرطانية تتمكن من التحكم في إنقاص التعبير عن البروتين Ki67 خلال الأطوار G0/G1 من الطور البيني، في حين أنّ الخلايا السرطانية تزيد من التعبير عنه حتى خلال فترات المخمصة الخلوية، ويستمر في الوجود فيها حتى بعد تثبيط الجين الذي يرمزه، إما لأنّ Ki67 يكون أكثر ثباتاً في هذه الحالة، أو لأنّ عملية التخريب التي تحصل بعد ترجمته تفشل بالحدوث في الخلايا السرطانية، بينما تنخفض قيم Ki67 لدى المريضات اللواتي لم يحتجن إلى علاج شعاعي وامتثلن للشفاء (1.12 ± 4.63 نانوغرام/مل).

توافقت هذه النتائج مع نتائج الدراسة التي أجراها Ragab HM. وزملاؤه لعام 2018 [18] والتي بينت ارتفاع قيم Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي المشخصات حديثاً وقبل تلقي العلاج، حيث وجدت فروقاً يعدد بها إحصائياً في قيم Ki67 المصلية بين المريضات المصابات بسرطان الثدي (13.43 نانوغرام/مل) وبين الشواهد الأصحاء (3.92 نانوغرام/مل) ($P < 0.001$).

كما توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Wang وزملائه لعام 2016 [20]، حيث تبين أن Ki67 يرتبط وبشكل مستقل بالاستجابة السريرية والباثولوجية الكاملة، فانخفاض التعبير

عن Ki67 بعد المعالجة الكيميائية لوحظ لدى المريضات اللواتي أبدين استجابة أفضل نسبياً.

تخالفت نتائج دراستنا مع نتائج الدراسة التي أجراها P. Prihantono وزملاؤه لعام 2017 [19] لدور Ki67 في تقييم الاستجابة للمعالجة الكيميائية في سرطان الثدي، حيث تبين وجود علاقة واضحة بين التعبير عن Ki67 والاستجابة لهذه المعالجة، وارتبطت زيادة التعبير عن Ki67 لدى المريضات بزيادة البقايا واستجابة أفضل للمعالجة الكيميائية.

وتخالفت نتائجنا أيضاً مع نتائج الدراسة التي أجراها J. R. Brown وزملاؤه لعام 2014 [21] ، وتبين فيها أن مقايسة Ki67 كمشعر للتكاثر الخلوي ترافقت مع استجابة للمعالجة الكيميائية وارتفاعه لدى المريضات يعد مشعراً مستقلاً للاستجابة لهذه المعالجة، فالأورام ذات قيم Ki67 المرتفعة تستجيب بشكل جيد للعلاج الكيميائي كونه يستهدف الخلايا التي تنقسم بسرعة وبالتالي فإن الأورام الأكثر عدوانية والتي ترتفع فيها قيم هذا المشعر التكاثري تكون أكثر استجابة للمعالجة الكيميائية.

الاستنتاجات والتوصيات:

وفق النتائج السابقة وبناء على ارتفاع قيم Ki67 المصلية بعد العلاج لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي واللواتي احتجن إلى متابعة المعالجة الشعاعية، وانخفاض قيم Ki67 المصلية بعد العلاج لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي واللواتي لم يحتجن إلى متابعة المعالجة الشعاعية؛ فإنه يمكن استخدام مستويات Ki67 المصلية معلماً يساعد على التنبؤ باستجابة مريضات سرطان الثدي للمعالجة (جراحة مع علاج كيميائي).

ركزت الدراسة على مقايسة مستويات Ki67 المصلية فقط، لذلك توصي بإجراء دراسة مستقبلية لمقايسة مستويات Ki67 المصلية والنسجية معاً لدى مريضات سرطان الثدي

قبل المعالجة وبعدها وأثنائها، من أجل تحري أثره على نحو أفضل في مناظرة المعالجة المطبقة والتوصل إلى نتيجة أكثر وضوحاً ودقة.

المراجع References

1. Simaan, S., & Jerf, F. A. (2018) Cancer in Syria (magnitude of the problem). **Int J Cancer Tremnt.** 1(1): p.10-15.
2. <https://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html>, accessed on 29/07/2019
3. Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P. P., & Zhu, H. P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. **International Journal of Biological Sciences.** 13(11): p.1387–1397.
4. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>, accessed on 01/08/2021
5. https://www.who.int/cancer/country-profiles/SYR_2020.pdf?ua=1, accessed on 07/05/2020
6. LI, L. T., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. N. (2014). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. **Molecular Medicine Reports,** 11(3): p.1566–1572.
7. Mannell, A. (2016). The role of Ki-67 in breast cancer. **South African Journal of Surgery.** 54(2): p.10–13.
8. Ross, W., & Hall, P. A. (1995). Ki67: from antibody to molecule to understanding. **Clinical Molecular Pathology,** 48(3): p.113–117.
9. Chierico, L., Rizzello, L., Guan, L., Joseph, A. S., Lewis, A., & Battaglia, G. (2017). The role of the two

- splice variants and extranuclear pathway on Ki-67 regulation in non-cancer and cancer cells. PLOS ONE, 12(2): p.1-20.
10. Scholzen, T., & Gerdes, J. (2000). The Ki-67 protein: from the known and the unknown. Journal of Cellular Physiology, 182(3): p.311–322.
 11. Sun, X., & Kaufman, P. D. (2018). Ki-67: more than a proliferation marker. Chromosoma, 127(2): p.175–186.
 12. Yerushalmi, R., Woods, R., Ravdin, P. M., Hayes, M. M., & Gelmon, K. A. (2010). Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. The Lancet Oncology. 11(2): p.174–183.
 13. Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P. and Sharma, K. K. (2010). Various types and management of breast cancer: an overview. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research. 1(2): p.109-126.
 14. Sherr, C.J. (1996). Cancer cell cycles. Science. 74(5293): p.1672-1677.
 15. Hanahan, D. and Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 144(5): p.646-674.
 16. Sonnenschein, C. and Soto A.M. (2013). The aging of the 2000 and 2011 Hallmarks of Cancer reviews: a critique. Journal of Biosciences. 38(3): p.651-663.
 17. Anjum, F., Razvi, N., & Masood, M. A. (2017). Breast Cancer Therapy: A Mini Review. MOJ Drug Design Development & Therapy. 1(2): p.35-38.
 18. Ragab HM, Samy N, Afify M, El Maksoud NA, & Shaaban HM.(2018). Assessment of Ki-67 as a potential biomarker in patients with breast cancer. J Genet Eng Biotechnol.16(2):479-484.
 19. Prihantono, P., Hatta, M., Binékada, C., Sampepajung, D., Haryasena, H., Nelwan, B., Asadul Islam, A., & Nilawati Usman, A. (2017, October 31). Ki-

67 Expression by Immunohistochemistry and Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction as Predictor of Clinical Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Locally Advanced Breast Cancer. Journal of Oncology.

20. Wang R.-X., Chen S., Jin X., & Shao Z.-M. (2016) Value of Ki-67 expression in triple-negative breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy with weekly paclitaxel plus carboplatin. Scientific Reports. vol. 6.
21. Brown, J. R., DiGiovanna, M. P., Killelea, B., Lannin, D. R., & Rimm, D. L. (2014). Quantitative assessment Ki-67 score for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. Laboratory Investigation, 94(1), 98–106.

تقييم النشاط المضاد للجراثيم والسّمية الخلوية لجسيمات الفضة النانوية المصنّعة حيويًا

طارق أحمد (1)، وليد خدام (1)، ليلى النداف (2)

(1) قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة البعث.

(2) قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة البعث.

الملخص:

تم تقييم النشاط المضاد للجراثيم لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) باستخدام طريقة التخفيف الدقيق للمرق ضد سلالات من جراثيم العنقوديات المذهبة (ATCC 6538) و*Staphylococcus aureus* والإشريكية الكولونية (ATCC 8739).

Escherichia coli

أظهرت النتائج أن جسيمات الفضة النانوية (AgNPs) تمتلك نشاطاً مضاداً لجراثيم العنقوديات المذهبة، حيث بلغ التركيز المثبط الأدنى (MIC) منها 2.5 مكغ / مل والتركيز القاتل الأدنى للجراثيم (MBC) 10 مكغ / مل، كما أظهرت نشاطاً مضاداً للجراثيم ضد جراثيم الإشريكية الكولونية، حيث كانت قيمة MIC تعادل 1.25 مكغ / مل وقيمة MBC تعادل 2.5 مكغ / مل.

تم تقييم تأثير السّمية الخلوية لـ AgNPs على كريات الدم الحمر (RBC) باستخدام عينة دم بشوي، حيث لم تظهر تراكيز MIC و MBC ضد المكورات العنقودية المذهبة والإشريكية الكولونية أي تأثير حال للدم، قد تكون هذه النتيجة مفيدة للتطبيقات في صناعة المستحضرات الصيدلانية كبديل للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: جسيمات الفضة النانوية، التأثير المضاد للجراثيم، تأثير السّمية

الخلوية

Evaluation of the Antibacterial Activity and Cytotoxicity of Silver Nanoparticles Biosynthesized

⁽¹⁾Tariq Ahmad, ⁽¹⁾Walid Khaddam, ⁽²⁾Lina AlNaddaf and

⁽¹⁾ Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmacy, Al-Baath University

⁽²⁾Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Al-Baath University

Abstract

The antibacterial activity of silver nanoparticles (AgNPs) has been evaluated using the broth microdilution method against bacterial strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) and *Escherichia coli* (ATCC 8739). The results show that AgNPs have an antibacterial activity against *S. aureus*, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 2.5 µg/mL and a minimum bactericidal concentration (MBC) of 10 µg/mL, and demonstrate antibacterial activity against *E. coli*, with a MIC of 1.25 µg/mL and a MBC of 2.5 µg/mL. The cytotoxicity effect of AgNPs on red blood cells (RBC) was evaluated using a human blood sample, no hemolytic effect of both MIC and MBC concentrations against *S. aureus* and *E. coli* was showed. This result could be useful for applications in the pharmaceutical industry as an alternative to antibiotics.

Keywords:

Silver nanoparticles, Antibacterial activity, Cytotoxicity effect.

1. Introduction:

Multidrug-resistant bacteria (MDR), additionally regarded as “superbugs”, constitute an extreme risk to our society. Over time, microorganisms are gaining resistance to the available antibiotics, and there is an instant need to improve active and innovative antimicrobial approaches. To date, certain resistance has developed contra most antibiotics [1]. Recently, the evolution of nanotechnology has been allowing for the development of new alternative antibacterial agents to be utilized against microorganisms infections [2].

Nanotechnology has become a very advanced and popular technology with enormous potential [3]. It has been very well explored in the fields of automotive, electronics, construction, cosmetics, and medicine. The technology offers a hopeful way to improve the properties of metals by transforming them into nanoparticles with in a size range from 1 to 100 nm [4]. The nanoparticles (NPs) synthesized can have a metallic structures like

silver, gold, zinc, etc. or organic structures [5]. Silver nanoparticles (AgNPs) have been widely utilized as nanomaterials for manufacturing cosmetic and healthcare products, antimicrobial textiles, wound dressings, antitumor drug carriers, etc. due to their excellent antimicrobial properties [6]. They can be synthesized using physical, chemical, and biological methods which is also renowned as "green synthesis" [7]. AgNPs have a broad spectrum of antibacterial properties due to its ability to penetrate bacterial cell walls, changing the structure of cell membranes and even resulting in cell death. Their activity is due to their nanoscale size and large ratio of surface area to volume. [8].

Human exposure to silver and silver-related compounds through many different routes, such as skin, gastrointestinal and lung. After absorption AgNPs can be distributed in the blood and brain, and subsequently, to the other organs, such as heart and kidney. The available animal researches are relatively short term studies. Furthermore, studies about the effect of AgNPs on human health

is limited. It seems that colloidal AgNPs have the ability to create a dose dependent toxic response in several organs [9]. Therefore, it is necessary to assess the cytotoxicity of its effective concentration of AgNPs on Human red blood cells (RBC).

2. Aim of the study:

Evaluate the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of AgNPs biosynthesized against gram positive (*Staphylococcus aureus*) and gram negative (*Escherichia coli*) bacteria, and determine its cytotoxicity on human red blood cells.

3. Materials and Methods:

3.1. Evaluation of Antibacterial Activity:

AgNPs were pre-biosynthesized using *Aspergillus niger* in the Microbiology Laboratory of Pharmacy College at Al-Baath University where the fungal filtrate was treated with silver nitrate then incubated in the dark overnight at laboratory temperature [10]. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538, Gram positive) and

Escherichia coli (ATCC 8739, Gram negative) were obtained from Microbiology Laboratory of Pharmacy College at Al-Baath University to determine MIC of AgNPs by the broth microdilution method according to the guidelines presented by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [11] [12]. A 96-well microplate was used. First, 50 μ L of Mueller–Hinton broth was added to all wells, stock bacterial inoculums were prepared by transferring pure colonies (24 hours old) in 5 mL sterile distilled water and adjusted the turbidity of the inoculums to 0.5 McFarland standard at 630 nm wavelengths [approximately 1.5×10^8 colony-forming unit (CFU)/mL]. To prepare bacterial suspensions for inoculation; this suspension was diluted to yield 5×10^6 CFU/mL. 50 μ L of the bacterial inoculum was added to all wells then 100 μ L of AgNPs solution [20 μ g/ml dimethyl sulfoxide (DMSO)] were added to the first well, AgNPs solution was serially diluted to obtain concentrations in the range of 0.15625 to 10 μ g/mL, untreated bacteria were utilized as a negative control. The 96-well

microplate was incubated at 37°C for 20 hours. All experiments were performed in triplicate, and values are reported as the mean of the results. MBC is defined as the lowest concentration of antimicrobial agent that kills > 99.9% of the initial bacterial population where no visible growth of the bacteria was observed [13]. To determine MBC of AgNPs, an aliquot of 10 µL from all wells in which no visible bacterial growth was seeded in Mueller Hinton Agar plates, and incubated at 37°C for 24 hours.

3.2. Cytotoxicity Assay:

Human RBCs were utilized to assess the cytotoxicity of silver nanoparticles according to [14] method using a 96-well microplate. As shown in (Fig. 2), 25 µL human blood was added to six wells (represented from A to E), 100 µL of AgNPs at MIC and MBC concentrations against both *S. aureus* and *E. coli* were added to the first four wells respectively (represented from A to D), 100 µL of DMSO was added to (E) well as a positive control, and 100 µL of tap water was added to (F) well as a negative control.

The 96-well microplate was incubated at 37 °C for 3 hours, then the wells were examined to observe hemolysis and the results were recorded.

4. Results & Discussion:

4.1. Evaluation of Antibacterial Activity:

The MIC value of AgNPs biosynthesized against *S. aureus* and *E. coli* was obtained 2.5 µg/mL, 1.25 µg/mL consecutively (Fig. 1). In another study, the MIC of AgNPs on *E. coli* was 8 µg/mL [14] , the difference may be due to the biosynthesis being done using plants instead of microorganisms which affected the results of antibacterial efficacy. The MBC value of AgNPs biosynthesized on *S. aureus* obtained 10 µg/mL. While the MBC of AgNPs on *E. coli* was 2.5 µg/mL, it is according to many studies. As a result, the AgNPs have an excellent antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli*. It is due to AgNPs have many antibacterial mechanisms include alteration of efflux pumps, disruption of membrane proteins and electron transport chains accumulation in

membrane affecting permeation, disruption of membrane and leakage of intracellular content, and interaction and damage in DNA [15].

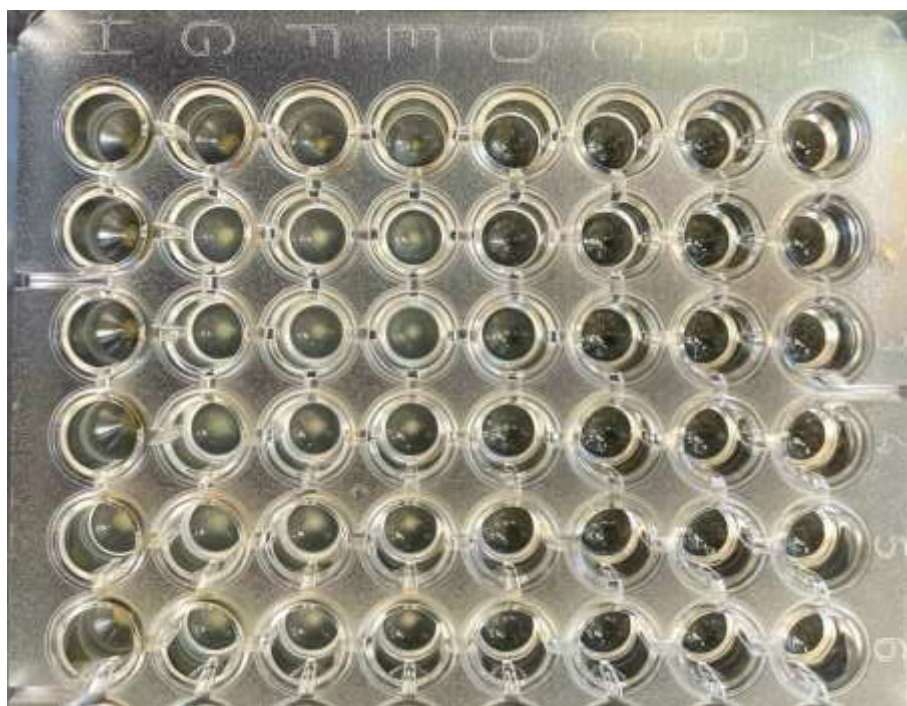


Fig. 1: Antibacterial activity and MIC determination of AgNPs against *Staphylococcus aureus* (in columns 1) and 2, 3 as replicates. *Escherichia coli* (in columns 4) and 5, 6 as replicates.

4.2. Cytotoxicity Assay:

Cytotoxicity of AgNPs solution was examined against human blood cells at the concentrations of 1.25, 2.5, and 10 $\mu\text{g/mL}$, at 37 °C for 3 hours. Hemolysis of the erythrocytes was observed, RBC showed no hemolysis to a comparable degree as in negative control of DMSO whereas the positive control of tap water exhibited clearly hemolysis (Fig. 2). Other studies like Park *et al.* (2010) [16], Philbrook *et al.* (2011) [17] , and Sieffert *et al.* (2015) [18] showed greater toxic effects following exposure to smaller particles while Botelho *et al.* (2016) [19] found that the larger particles were more toxic. The differences of effect in the in vivo studies could be due to variations in route of exposure, form

of silver, dose, the target tissue, and type of assays and how to conduct them.

Fig. 2: Cytotoxicity assay of AgNPs against human RBC.

5. Conclusions and Recommendations:

5.1. Conclusions:

1. silver nanoparticles have antibacterial activity against *S. aureus* and *E. coli* when utilize certain concentrations.

2. Those concentrations of AgNPs have no hemolytic effect on



human red blood cells.

5.2. Recommendations:

1. Testing the synergistic effect of silver nanoparticles with antibiotics.
2. Testing the efficacy of silver nanoparticles against laboratory animals.

6. Acknowledgments:

The authors are grateful to Al-Baath University and College of Pharmacy for supporting this research.

7. References:

- [1] J. Gouyau, R. E. Duval, A. Boudier, and E. Lamouroux, 'Investigation of Nanoparticle Metallic Core Antibacterial Activity: Gold and Silver Nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 4, Art. no. 4, Jan. 2021, doi: 10.3390/ijms22041905.
- [2] J. S. Choi *et al.*, 'Antibacterial Activity of Green-Synthesized Silver Nanoparticles Using *Areca catechu* Extract against Antibiotic-Resistant Bacteria', *Nanomaterials*, vol. 11, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2021, doi: 10.3390/nano11010205.

- [3] M. Meena *et al.*, 'Endophytic Nanotechnology: An Approach to Study Scope and Potential Applications', *Frontiers in Chemistry*, vol. 9, p. 47, 2021, doi: 10.3389/fchem.2021.613343.
- [4] S. Majeed, M. Danish, A. H. Binti Zahrudin, and G. K. Dash, 'Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from fungal species and its antibacterial and anticancer effect', *Karbala International Journal of Modern Science*, vol. 4, no. 1, pp. 86–92, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.kijoms.2017.11.002.
- [5] A. M. Ealias and M. P. Saravanakumar, 'A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application – IOPscience', *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, vol. 263, no. 3, 2017, Accessed: Nov. 05, 2021. [Online]. Available: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- [6] C. Liao, Y. Li, and S. C. Tjong, 'Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 2, Art. no. 2, Jan. 2019, doi: 10.3390/ijms20020449.
- [7] Salleh A *et al.*, 'The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action', *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, vol. 10, no. 8, 2020, doi: 10.3390/nano10081566.

- [8] I. X. Yin, J. Zhang, I. S. Zhao, M. L. Mei, Q. Li, and C. H. Chu, 'The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry', *Int J Nanomedicine*, vol. 15, pp. 2555–2562, Apr. 2020, doi: 10.2147/IJN.S246764.
- [9] M. Korani, E. Ghazizadeh, S. Korani, Z. Hami, and A. Mohammadi–Bardbori, 'Effects of silver nanoparticles on human health', *European Journal of Nanomedicine*, vol. 7, no. 1, pp. 51–62, Jan. 2015, doi: 10.1515/ejnm–2014–0032.
- [10] A. Tariq, K. Waleed, A. Lina, and A. Maysaa, 'Aspergillus niger as a Bio–Lab for Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles and Its Antibacterial Activity', *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut*, In press. [Online]. Available: DOI: 10.21608/BFSA.2021.109706.1254
- [11] A. M. Borman *et al.*, 'MIC distributions for amphotericin B, fluconazole, itraconazole, voriconazole, flucytosine and anidulafungin and 35 uncommon pathogenic yeast species from the UK determined using the CLSI broth microdilution method', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 75, no. 5, pp. 1194–1205, May 2020, doi: 10.1093/jac/dkz568.
- [12] Y. Sadeghipour *et al.*, 'Evaluation antibacterial activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles by using extract of *Euphorbia Pseudocactus Berger* (Euphorbiaceae)', *Nanomedicine Research Journal*, vol. 5, no. 3, pp. 265–275, Sep. 2020, doi: 10.22034/nmrj.2020.03.007.

- [13] M. S. M. Mohamed, H. M. Mostafa, S. H. Mohamed, S. I. Abd El-Moez, and Z. Kamel, 'Combination of Silver Nanoparticles and Vancomycin to Overcome Antibiotic Resistance in Planktonic/Biofilm Cell from Clinical and Animal Source', *Microbial Drug Resistance*, vol. 26, no. 11, pp. 1410–1420, Nov. 2020, doi: 10.1089/mdr.2020.0089.
- [14] A. K. Keshari, R. Srivastava, P. Singh, V. B. Yadav, and G. Nath, 'Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cestrum nocturnum*', *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, vol. 11, no. 1, pp. 37–44, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.jaim.2017.11.003.
- [15] T. Bruna, F. Maldonado-Bravo, P. Jara, and N. Caro, 'Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 13, Art. no. 13, Jan. 2021, doi: 10.3390/ijms22137202.
- [16] E.-J. Park *et al.*, 'Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles', *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 30, no. 2, pp. 162–168, 2010, doi: 10.1016/j.etap.2010.05.004.
- [17] N. A. Philbrook, L. M. Winn, A. R. M. N. Afrooz, N. B. Saleh, and V. K. Walker, 'The effect of TiO₂ and Ag nanoparticles on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice', *Toxicol Appl Pharmacol*, vol. 257, no. 3, pp. 429–436, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.taap.2011.09.027.

- [18] J. Seiffert *et al.*, ‘Pulmonary Toxicity of Instilled Silver Nanoparticles: Influence of Size, Coating and Rat Strain’, *PLOS ONE*, vol. 10, no. 3, p. e0119726, ٢٠١٥/٠٣/٠٦, doi: 10.1371/journal.pone.0119726.
- [19] D. J. Botelho *et al.*, ‘Low-dose AgNPs reduce lung mechanical function and innate immune defense in the absence of cellular toxicity’, *Nanotoxicology*, vol. 10, no. 1, pp. 118–127, 2016, doi: 10.3109/17435390.2015.1038330.

تقييم ثلاثة بروتوكولات علاجية في تدبير التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي

د. علي حربا: طالب دكتوراه - قسم جراحة الفم والفكين - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق
أ.د. منير حرفوش: أستاذ - قسم جراحة الفم والفكين - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

المخلص

هدف البحث: تقييم فعالية غسل المفصل مع حقن حمض الهيالورونيك وغسل المفصل بالمشاركة مع حقن حمض الهيالورونيك والبلازما الغنية بالصفائح الدموية في علاج التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي TMJ-OA ومقارنتها مع حقن حمض الهيالورونيك لوحده.

مواد وطرائق البحث: شملت عينة البحث 33 مريضاً ممن شخص لديهم التهاب مفصل فكي صدغي تنكسي. تم تقسيم العينة إلى 3 مجموعات: المجموعة الأولى (الشاهدة) 11 مريضاً تم علاجهم عن طريق حقن 1 مل حمض الهيالورونيك، المجموعة الثانية 11 مريضاً تم علاجهم من خلال عملية غسل المفصل يتلوه حقن 1 مل حمض الهيالورونيك والمجموعة الثالثة 11 مريضاً تم علاجهم بغسل المفصل يتلوه حقن 0.5 مل حمض الهيالورونيك و0.5 مل بلازما غنية بالصفائح الدموية. تم تقييم كلاً من الألم عند المضغ والفعالية المضغية والأصوات المفصالية وفتحة الفم القسوى والإعاقة الوظيفية وذلك في كل مجموعة وتمت المقارنة بين المجموعات.

النتائج: أظهرت النتائج تحسناً في المشعرات المدروسة خلال فترات المتابعة في كل المجموعات مع أفضلية للمجموعة الثالثة في أغلب المتغيرات السريرية.

الاستنتاج: إن أي من العلاجات المقدمة في هذا البحث حققت تحسناً في الأعراض السريرية وإن مشاركة حقن حمض الهيالورونيك والبلازما الغنية بالصفائح بشكل تالي لعملية غسل المفصل حققت تحسناً أفضل من حقن حمض الهيالورونيك لوحده وأعطى نتائج سريرية متفوقة في علاج التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي.

الكلمات المفتاحية: التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي، حمض الهيالورونيك، البلازما الغنية بالصفائح، غسل المفصل الفكي الصدغي.

A comparison between three protocols in the treatment of Temporomandibular Joint osteoarthritis

Dr. Ali N. Harba: PhD Student, Department of Oral and Maxillofacial surgery, Faculty of Dentistry, Damascus University

Prof.Dr. Munir Harfouch: Professor, Department of Oral and Maxillofacial surgery, Faculty of Dentistry, Damascus University

Abstract

Purpose: This study aimed to evaluate the combination of Hyaluronic acid (HA), Platelet-rich Plasma (PRP) injections with TMJ arthrocentesis, and to evaluate the combination of HA injection with TMJ arthrocentesis in the treatment of Temporomandibular Joint osteoarthritis and comparing it with Hyaluronic acid injection alone.

Material and methods: The sample consisted of 33 patients with TMJ-Osteoarthritis, the sample was divided into three groups, the reference group (11 patients) who were treated by HA alone, the A+HA was used in the 2nd group (11 patients) who were treated by TMJ arthrocentesis followed by injection of 1 ml of HA, A+HA+PRP was used in the 3rd group (11 patients) who were treated by TMJ arthrocentesis followed by injection of 0.5 ml of HA and 0.5 ml of PRP, The injection protocol for both groups was every two weeks for four times. pain at mastication, masticatory efficiency, joint sounds, maximum mouth opening and functional limitation were evaluated one month, 3, 6 and 12 months after the last injection in each group separately, and the test groups were compared with the reference group before and after 6 and 12 months.

Results: The results showed an improvement in the studied indicators during the follow-up periods in all groups, with a preference for the third group in most clinical variables.

Conclusion: Any of the treatments presented in this study achieved an improvement in clinical symptoms, and the combination of HA and PRP injections following arthrocentesis achieved a better improvement than HA injection alone and gave superior clinical results in the treatment of TMJ-osteoarthritis.

Key words: Temporomandibular Joint osteoarthritis – Arthrocentesis – Hyaluronic Acid – Platelet-rich Plasma.

المقدمة Introduction:

يعتبر الجهاز الماضغ وحدةً وظيفية معقدة ودقيقة ومركبة في الجسم وهذه الوحدة هي المسؤولة بشكل أساسي عن المضغ والتحدث والبلع، والمفصل الفكي الصدغي TMJ واحداً من أهم عناصر هذا الجهاز الماضغ وهو من أعقد المفاصل الموجودة بالجسم، نظراً لتركيبه وحساسيته، واضطراب المفصل الفكي الصدغي TMD هو خلل يصيب هذا المفصل ويؤدي بالنتيجة إلى حصول واحداً أو مجموعة من الأعراض والعلامات المرافقة [1, 2].

إن إحدى أهم الوحدات المرضية التي تندرج ضمن مجموعة الإضطرابات التي تصيب المفصل هي التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي TMJ-Osteoarthritis وهو مرض مزمن ومخرب ويأخذ منحى تصاعدي مع الزمن ويُعرّف بأنه التخرب التدريجي (التنكس) للغضروف والعظم والأنسجة الداعمة في المفصل، ويتميز بألم وتيبس وسوء الوظيفة [3]، وينتج عن الأحداث الميكانيكية والبيولوجية التي تززع الاستقرار الطبيعي للعمل المتزامن بين هدم وبناء الغضروف المفصلي والعظم تحت الغضروف وتحدث تحميلاً غير وظيفي على المفصل، حيث وبتعبير آخر فإنه لا يسبب التنكس الموضع للغضروف المفصلي فقط، بل ويؤدي أيضاً إلى التآكل العظمي والتصلب والتسطح وفي بعض الحالات تكوّن تشوّات على الحواف العظمية [4]، استناداً إلى النتائج الشعاعية، ويُقدر انتشار التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي (TMJ-OA) في عموم الناس بـ 8% إلى 16%، وبعض الدراسات ذكرت أن شيوع التغيرات التنكسية في المفصل يكون بين 8% و 35% [5, 6].

تضمن الأدب الطبي العديد من خيارات المعالجة لـ TMJ-OA والتي تهدف في مجملها إلى زيادة مدى الحركة وتخفيف الألم الوظيفي للمفصل وتحسين جودة ونوعية حياة

المريض وجعل الوظيفة المفصالية الفكية سلسلة ومريحة وترميم عناصر المفصل التي تعرضت للأذية وتتدرج هذه الخيارات من الأكثر محافظة إلى أن تصل إلى جراحة المفصل الفكي الصدغي والتي تتم في حال استنفاد الخيارات المحافظة أو في الحالات الخاصة جداً [7-9].

ومن الخيارات العلاجية التي ذكرت في كثير من الأبحاث حقن مواد صناعية أو ذاتية كحقن الستيروئيدات القشرية أو مضادات الالتهاب اللاستيروئيدية (NSAIDs) أو البلازما الغنية بالصفائح الدموية أو حمض الهيالورونيك واقترح غسيل المفصل Arthrocentesis أيضاً وأجريت العديد من الأبحاث في هذا الصدد وبعض الدراسات قامت بمشاركة أكثر من بروتوكول حقن أو مشاركات حقن مع غسيل المفصل [10-14] وُصفت عملية غسل المفصل الفكي الصدغي Arthrocentesis في الأدب الطبي على أنها إجراء علاجي لطيف لتدبير TMJ-OA [15]، ويتمثل المبدأ الأساسي بهذا الإجراء في إدخال زوج من الإبر في جوف المفصل العلوي والغسل باستخدام محلول ملحي فسيولوجي أو محلول رينجر Ringer's lactated solution [16] أو يتم باستخدام إبرة واحدة single-needle أو قنطرة خاصة يتم من خلالها دخول وخروج المحلول بالتناوب [17]، ويتم عادةً في عيادة جراحة الفم والفكين وبإجراءات التخدير الموضعي أو التخدير الموضعي مع التركين الوريدي أو تحت إجراءات التخدير العام في المستشفى [18].

وحمض الهيالورونيك (HA) هو متعدد السكاريد الطبيعي ويعود لعائلة الجليكوسامينوجليكان وهي المسؤولة عن الحفاظ على لزوجة السائل الزليلي والتشحيم والتخميد والوصول إلى خصائص الغضاريف المفصالية مثل امتصاص الصدمات وتوزيع الحمولة على نحو أفضل [19] ولا HA خصائص ميكانيكية، واستقلابية وبيولوجية [20] و TMJ-OA يؤدي لانخفاض في تركيز HA داخل المفصل بسبب التحلل من قبل بعض أنواع الأوكسجين التفاعلية وإنتاج حمض مع وزن جزيئي أقل من العادي، ونتيجة

لذلك يحدث انخفاض في التزيت وزيادة في الإجهاد الميكانيكي للمفصل، مما يؤدي بالنتيجة إلى التقدم السريري والشعاعي للمرض [21].

البلازما الغنية بالصفائح الدموية (PRP) هي مركبات الصفائح وعوامل النمو المرتبطة بها GFS التي يتم الحصول عليها من خلال الانسحاب والطرء المركزي لعينة من دم المريض [22] وأظهرت PRP خواصاً مضادة للالتهاب وتسكينية وبالإضافة إلى خصائص مضادة للبكتريا وأيضاً قادرة على استعادة حمض الهyalورونيك داخل المحفظة وزيادة اصطناع الخلايا الغضروفية ويعمل على توازن التروية الدموية ويوفر سقالة لهجرة الخلايا الجذعية [23].

أجريت العديد من الدراسات التي تتضمن غسيل المفصل لوحده أو حقن HA أو PRP وأظهرت كل منها فوائد في تدبير TMJ-OA وحيث كانت في مجملها مفيدة وقدمت نتائج جيدة في هذا الشأن وأوصت بمشاركة هذه الإجراءات في محاولة للوصول لأكثر البرتوكولات إفادَةً في معالجة TMJ-OA ومن هنا كانت الغاية من إجراء هذا البحث.

هدف البحث:

تقييم فعالية غسل المفصل مع حقن حمض الهyalورونيك وغسل المفصل بالمشاركة مع حقن حمض الهyalورونيك والبلازما الغنية بالصفائح الدموية في علاج التهاب المفصل الفكي الصدغي التتكسي ومقارنتها مع حقن حمض الهyalورونيك لوحده من خلال مجموعة من المتغيرات السريرية والشعاعية.

المواد والطرق:

تصميم الدراسة Study Design: هذه الدراسة دراسة مراقبة مستقبلية سريرية Prospective Observational Study.

وصف العينة: بلغ عدد مرضى العينة في البحث 33 مريضاً من المراجعين لقسم ومشفى جراحة الفم والوجه والفكين في كلية طب الأسنان في جامعة دمشق بين عامي 2019 و2020 ويعانون من التهاب مفصل فكي صدغي تنكسي TMJ-OA وقد تم تقسيم العينة عشوائياً إلى ثلاث مجموعات كالتالي:

- المجموعة الأولى (المجموعة الشاهدة): 11 مريضاً تم علاجهم بحقن 1 مل من حمض الهyalورونيك HA لوحده بالمفصل الفكي الصدغي في كل جلسة وعلى 4 جلسات وبفاصل أسبوعين بين الجلسات.

- المجموعة الثانية: 11 مريضاً تم علاجهم بغسل المفصل متبوعاً بحقن 1 مل من حمض الهyalورونيك بالمفصل ثم حقن HA على 3 جلسات وبفاصل أسبوعين بين الجلسات.

- المجموعة الثالثة: 11 مريضاً تم علاجهم بغسل المفصل متبوعاً بحقن 0.5 مل حمض الهyalورونيك HA بالمشاركة مع 0.5 مل من البلازما الغنية بالصفائح الدموية PRP بالمفصل، ثم حقن HA و PRP على 3 جلسات وبفاصل أسبوعين بين الجلسات.

تم أخذ الموافقة الخطية من جميع المرضى على تضمينهم في عينة البحث وتم ملء استمارة معلومات خاصة لكل مريض، وتسجيل القصة المرضية وإجراء التقييم السريري والفحص الشعاعي (الشكل 1).

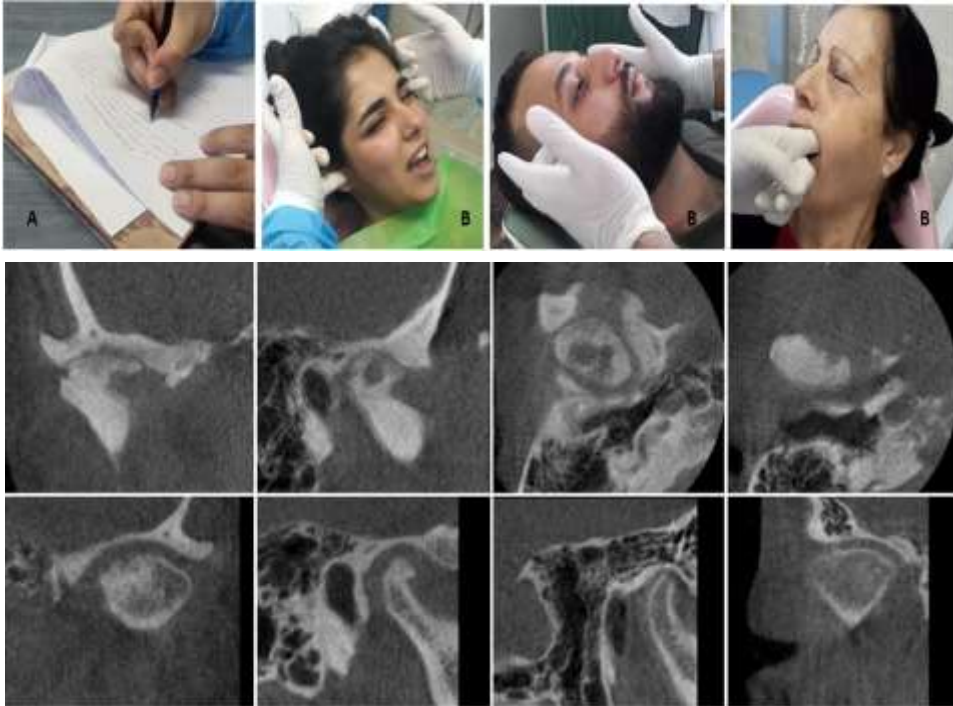
معايير القبول: المرضى الذين يعانون من التهاب مفصل فكي صدغي تنكسي TMJ-OA وتم الاعتماد على Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders في وضع التشخيص المناسب للاضطراب المفصلي الفكي الصدغي التنكسي.

حيث أنه وبالعودة إلى RDC/TMD guidelines المحور الأول – المجموعة IIIb يعتبر التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي هو التشخيص عندما تتحقق العلامات والأعراض التالية:

• الألم المفصلي (ألم الـ TMJ بالجنس الجانبي و/أو الخلفي مع ألم أثناء فتح الفم الأقصى الطوعي MVMO و/أو فتح الفم الأقصى بمساعدة و/أو الحركات الجانبية).
• أصوات مفصلية (فرقة).

• علامات وموجودات شعاعية تدل على وجود تشوهات بالهيكل العظمي لـ TMJ ومنها التآكل، التصلب، تسطح، نتوءات عظمية، تقطع بالصفحة العظمية القشرية.

معايير الاستبعاد: مرضى الاضطرابات الدموية والعصبية، ومرضى النسيج الضام الجهازية، ومرضى السرطانات في الرأس والعنق، والمرضى الذين أظهروا أعراض تحسس تجاه حمض الهيالورونيك.



الشكل 1: التقييم السريري والشعاعي لمرضى البحث

مواد البحث Materials: مستحضر دوائي على شكل سيرنجات 2 مل من حمض الهيالورونيك HA من شركة (Fidia Farmaceutici, Abano Terme, Italy) (وزن جزيئي 500.000 – 730.000 Daltons) (شكل 2).



الشكل 2: مستحضر دوائي HA من شركة Hyalgan®

- محاقن مختلفة القياسات، رؤوس أبر كوج 18
- أنابيب تحوي سترات الصوديوم.
- أنابيب جافة.
- مثقلة نوع AMP (شكل 3).
- قفازات جراحية - بوفيدون - كحول - شاش.
- أدوات الفحص وتسجيل البيانات (مسطرة، كاميرا Sony، بيكوليس ... الخ).
- محلول التخدير (Lidocaine Hcl 2%) ومحلول رينجرز (شكل 4).



الشكل 3: المثقلة المستخدمة بالبحث
الشكل 4: المواد المستخدمة في غسيل المفصل
وسيرنج HA و PRP بعد التحضير

بروتوكول المعالجة Treatment Protocol:

1. مجموعة حمض الهيالورونيك لوحده (HA group): بعد استقبال المريض وتسجيل القصة المرضية وملء الاستمارة الخاصة بالمريض وإكمال إجراءات التشخيص السريري والشعاعي، تم تحضير المريض لجلسة الحقن الأولى والتي تتم على النحو التالي:

- إجراء اختبار التحسس تجاه مادة حمض الهيالورونيك وفق البروتوكول.
- تعتمد النقاط العلامة نفسها المستخدمة في الفحص بالمنظار (قمحة الأذن)، بحيث يرسم خط من منتصف قمحة الأذن وحتى المآق (اللاحاظ) الوحشي (الجانبية) للعين، بحيث تكون نقطة الحقن على بعد 10 ملم من منتصف القمحة و 2 ملم أسفل هذا الخط، تجس القوس الوجنية واللقمة وهي في وضع قسري أمامي وذلك عند الفتح الأعظمي للفم وتبقى الإصبع السبابة على اللقمة كدليل أمان، سوف يتشكل تقعر أمام صيوان الأذن هذا التقعر يعلم كنقطة حقن.
- بعد إجراء اختبار التحسس والتأكد من سلبيته يتم تطهير منطقة الحقن والمنطقة حولها بالبوفيدون والكحول، والانتظار حتى تجف.

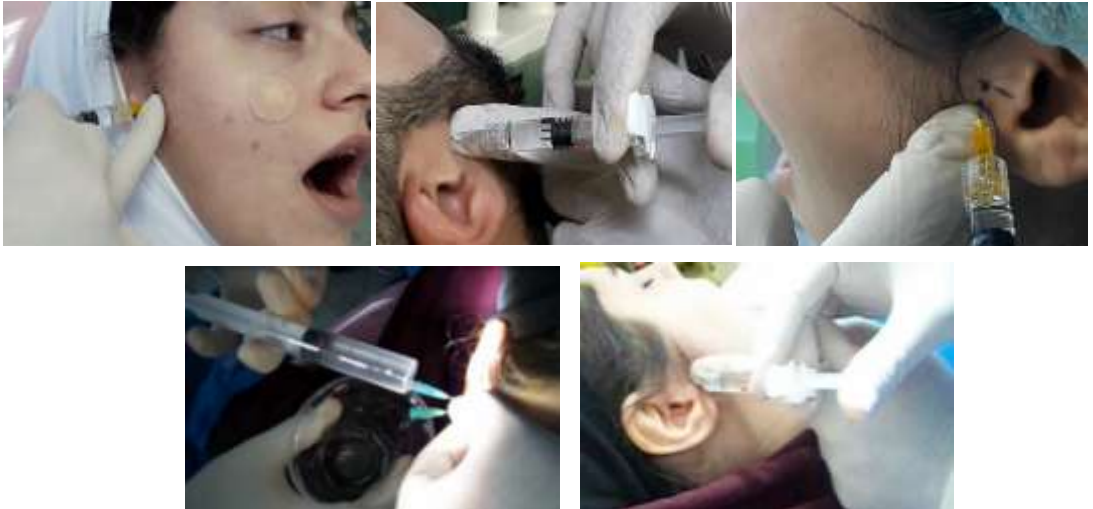
- يتم حقن 1 مل من حمض الهيالورونيك بواسطة السيرنج الجاهز من هيالغان في الجوف المفصلي والفم مازال في وضع الفتح الأعظمي، وبعد إزالة المحقنة يطلب من المريض إغلاق الفم ببطء.
- تعاد هذه العملية في المفصل المقابل في حال الإصابة ثنائية الجانب.
- تسجل ردود الأفعال ومختلف ظروف العمل وملاحظات المرضى.
- تعطى التعليمات الخاصة بعد الحقن.
- تكرر عملية الحقن لتكتمل 4 مرات بحيث يكون الفاصل بين جلسات الحقن 14 يوماً، وبالطريقة المذكورة نفسها.
- 2. مجموعة الغسل وحقن حمض الهيالورونيك (A+HA group): كما في المجموعة الأولى، فبعد استقبال المريض وتسجيل القصة المرضية وملء الاستمارة الخاصة وإكمال إجراءات التشخيص تم تحضير المريض لجلسة الغسل والحقن الأولى والتي تمت على النحو التالي:
- اعتمدت النقاط العلامة نفسها المستخدمة في الفحص بالمنظار (القمحة الجانبية)، بحيث يرسم خط من منتصف قمحة الأذن وحتى المآق (اللاحاظ) الوحشي (الجانبية) للعين.
- تم تطهير سطح الجلد في المنطقة حول اللقمة بمحلول البوفيدون، وتم رسم نقطتين: الأولى على بعد 10 ملم من منتصف القمحة و2 ملم أسفل هذا الخط، والثانية بعد 20 مم و6 مم أسفل هذا الخط.
- تم إجراء تخدير العصب الأذني الصدغي (ليدوكائين 2% مع الإبنفرين 1/80000) والتخدير بالارتشاح داخل وحول المحفظة (الشكل 5).
- تم وضع إبرتين كوج 18 عند نقاط الدخول والخروج، تم إجراء عملية غسل المفصل باستخدام محلول رينجرز لاكتات 50 مل للتخلص من الوسائط الالتهابية في السائل الزليلي، وبمجرد الانتهاء من غسل المفصل، تم حقن 1 مل من HA في المفصل.
- تكرر عملية الحقن لتكتمل 4 مرات بحيث يكون الفاصل بين الجلسات 14 يوماً.



الشكل 5: التخدير الموضعي قبل إجراء الغسيل

3. مجموعة غسل المفصل وحمض الهيالورونيك مع البلازما الغنية بالصفائح (A+HA+PRP group): يوصى المريض بعدم تناول الصادات الحيوية لفترة أسبوع قبل الحقن وأسبوع بعده لما لها من تأثيرات سلبية على عمل البلازما الغنية بالصفائح.

- تحضير البلازما الغنية بالصفائح الدموية حيث اعتمدنا بروتوكول Marx للحصول على أفضل ركازة صفائح في البلازما من الدم البشري.
- بنفس الإجراءات المتبعة بالمجموعة الثانية (A+HA group) ولكن في هذه المجموعة تم حقن PRP بشكل تالي لحقن الـ HA بعد غسل المفصل في الجلسة الأولى وبمقدار 0.5 مل لكل منهما ويعاد الحقن ليكمل 4 مرات وبفارق 14 يوماً بين الجلسات.





الشكل 6: مجموعة من صور الإجراءات العلاجية المختلفة الخاصة بالبحث

متابعة الحالات Follow Up:

تم تسجيل المعطيات قبل المعالجة وبعد شهر وثلاث أشهر وستة أشهر و12 شهراً بعد المعالجة، بحيث تم تسجيل قيم المعايير المدروسة بشكل مشابه للأبحاث العالمية الأخرى التي درست علاج الـ TMDs.

متغيرات البحث:

- الألم عند المضغ: تم التقييم باستخدام VAS من 0 حتى 10 حيث أن الصفر تعني غياب الألم، والعشرة تعني ألم لم يختبره المريض من قبل ولا يمكن احتمالته وترتفع الدرجة بازدياد الألم.
- الفعالية المضغية: تم تقييم الفعالية المضغية بواسطة VAS من 0 إلى 10 بحيث الدرجة 0 تعني (القدرة على تناول الطعام شبه السائل فقط) والـ 10 تعني (تناول طعام صلب قاسي).
- الأصوات المفصالية: تم التقييم باستخدام VAS من 0 حتى 10 حيث يتم التقييم أثناء حركات الفك حيث صفر (لا أصوات) والعشرة تعني (أصوات عالية جداً).
- فتحة الفم القصوى: تم قياسها بالمليمتر بقياس المسافة بين الحد القاطع للثنايا العلوية والسفلية بوضعية الفتح الأعظمي للفم.

- الإعاقة الوظيفية أثناء حركات الفك السفلي: تم تسجيلها كالتالي
0: غائبة - 1: طفيف - 2: معتدل - 3: مكثفة - 4: شديدة.

التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج بواسطة برنامج SPSS Statistics 24.0، واستخدم اختبار Wilcoxon من أجل التقييم المعني بتطور الحالات داخل كل مجموعة وذلك للوقوف على التغيرات في كل منها، واختبار Mann-Whitney U من أجل التقييم المعني بالمقارنة بين مجموعات الاختبار والمجموعة الشاهدة لتحديد أي من البرتوكولات أعطى نتائج أفضل، وتم تعيين الدلالة عند قيمة P أقل من 0.05 لجميع الاختبارات الإحصائية.

النتائج:

تم تقسيم عينة البحث إلى ثلاث مجموعات من المرضى، وتم علاج المرضى بالمجموعة الأولى عن طريق حقن حمض الهيالورونيك HA لوحده وتم اعتبارها المجموعة الشاهدة (Reference group) وتم تسميتها مجموعة HA، والمجموعات الأخرى شكلت مجموعات الاختبار (Test groups) حيث تم علاج مرضى المجموعة الثانية بغسل المفصل متبوعاً بحقن حمض الهيالورونيك وتم تسميتها A+HA. أما المجموعة الثالثة فقد تم علاج مرضاها بغسل المفصل متبوعاً بحقن حمض الهيالورونيك والبلازما الغنية بالصفائح وسيتم بـ A+HA+PRP، وتألقت كل مجموعة من 11 فرد مع متوسطات أعمار (29.64، 30.64، 27.09) سنة للمجموعات الشاهدة والاختبار توالياً.

سُجل تحسن بكل المعايير المدروسة عند جميع الأفراد المعالجين بكل المجموعات (الجدول 1، 3، 5)، ولتحقيق دراسة إحصائية ولتحقق من التغيرات الحاصلة تمت دراسة متغيرات البحث داخل كل مجموعة على حدى بمرور الوقت من خلال مقارنتها في كل نقطة متابعة مع سابقتها (الجدول 2، 4، 6)، وتحققنا من الفروق بين كل مجموعة

تقييم ثلاثة بروتوكولات علاجية في تدبير التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي

من مجموعات الاختبار والمجموعة الشاهدة قبل العلاج وبعد 6 أشهر وبعد 12 شهر (الجدول 7، 8). وقد تم إجراء خمس مراحل من القياسات (قبل المعالجة، بعد شهر، بعد 3 أشهر، بعد 6 شهور، بعد 12 شهراً). من المتابعة، وفيما يلي نتائج الدراسة إحصائياً. تمثل الجداول (1 - 3 - 5) المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري لقيم القياسات عند مرضى المجموعات الثلاث خلال فترات المتابعة المختلفة وتمثل الجداول (2 - 4 - 6) نتائج اختبار ويلكوكسن Wilcoxon للمقارنة بين متوسطي كل قياسين متتاليين في كل مجموعة على حدى لمعرفة إذا ما كانت الفروق بين هذه المتوسطات ذات دلالة إحصائية.

الجدول 1: المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري لقيم القياسات عند مرضى المجموعة الأولى (مجموعة HA) خلال فترات المتابعة المختلفة

قبل المعالجة		بعد شهر		بعد 3 أشهر		بعد 6 شهور		بعد 12 شهر		الأم عند المنبع (VAS) الكلية
المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	
6.45	1.21	4.18	1.32	3.38	1.16	3.68	1.48	5.22	1.21	الأم عند المنبع (VAS) المنطقية
4.63	1.18	6.63	1.02	7.18	1.07	6.18	0.84	5.27	1.00	الأم عند المنبع (VAS) الأصوات المنطقية
5.72	1.16	3.34	0.55	2.72	0.84	3.45	1.05	4.00	1.00	قلمة لغم القصور (mm)
30.72	7.13	39.5	5.23	40.18	5.52	38.04	5.35	34.4	5.24	إزعاج أثناء الحركة (LTS)
1.95	0.72	1.04	0.47	0.81	0.46	1.22	0.51	1.68	0.71	

الجدول 2: يبين قيم Z لاختبار Wilcoxon ومستوى الدلالة الخاصة بكل زوج من أزواج المقارنة (كل فترة مراقبة مع سابقتها) والقرار الإحصائي فيما إذا كان هناك فرق أم لا في مجموعة HA

المتغير	المقارنة بين فترتي بعد شهر - قبل المعالجة			المقارنة بين فترتي بعد 3 أشهر - بعد شهر			المقارنة بين فترتي بعد 6 أشهر - بعد 3 أشهر			المقارنة بين فترتي بعد 12 شهر - بعد 6 أشهر		
	قيمة Z	قيمة P	دلالة	قيمة Z	قيمة P	دلالة	قيمة Z	قيمة P	دلالة	قيمة Z	قيمة P	دلالة
الأم عند المنبع	-2.95	0.003*	نعم	-2.22	0.026*	نعم	-0.83	0.4	لا	-2.84	0.004*	نعم
المنطقية المنطقية	-2.99	0.003*	نعم	-2.40	0.016*	نعم	-2.84	0.004*	نعم	-2.71	0.007*	نعم
الأصوات المنطقية	-2.85	0.004*	نعم	-2.68	0.007*	نعم	-1.86	0.062	لا	-2.01	0.044*	نعم
قلمة لغم القصور	-2.93	0.003*	نعم	-1.96	0.05	لا	-2.65	0.008*	نعم	-2.29	0.022*	نعم
الإزعاج الوظيفية	-2.68	0.007*	نعم	-1.89	0.59	لا	-2.08	0.037*	نعم	-1.89	0.059	لا

الجدول 3: المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري لقيم القياسات عند مرضى المجموعة الثانية (مجموعة A+HA) خلال فترات المتابعة المختلفة

	قبل المعالجة		بعد شهر		بعد 3 أشهر		بعد 6 شهور		بعد 12 شهر	
	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط
الألم عند المشي (VAS)	1.2	6.59	0.86	3.5	0.53	2.91	0.52	2.45	1.07	4.18
التعبية (VAS)	1.67	4.36	0.80	6.63	0.53	6.90	0.83	7.09	0.66	5.90
الأسوت المصنعية (VAS)	1.4	5.81	1.07	3.18	0.73	2.59	0.93	2.54	1.05	3.68
قائمة عدم التسور	7.1	32.18	6.38	41.5	5.38	43.18	5.24	43.22	3.96	37.4
الإعانة أثناء الحركة (LTS)	1.10	2.18	0.71	1.31	0.52	0.95	0.56	0.81	0.56	1.54

الجدول 4: يبين قيم Z لاختبار Wilcoxon ومستوى الدلالة الخاصة بكل زوج من أزواج المقارنة (كل فترة مراقبة مع سابقتها) والقرار الاحصائي فيما إذا كان هناك فرق في مجموعة A+HA

المتغير	المقارنة بين فترتي بعد شهر - قبل المعالجة			المقارنة بين فترتي بعد 3 أشهر - بعد شهر			المقارنة بين فترتي بعد 6 شهور - بعد 3 أشهر			المقارنة بين فترتي بعد 12 شهر - بعد 6 أشهر		
	قيمة Z	قيمة P	قرار	قيمة Z	قيمة P	قرار	قيمة Z	قيمة P	قرار	قيمة Z	قيمة P	قرار
الألم عند المشي	-2.90	0.003*	نعم	-2.53	0.011*	نعم	-2.23	0.025*	نعم	-2.85	0.004*	نعم
التعبية المصنعية	-2.81	0.005*	نعم	-1.34	0.18	لا	-1.00	0.31	لا	-2.84	0.004*	نعم
الأسوت المصنعية	-2.68	0.007*	نعم	-2.04	0.041*	نعم	-0.09	0.92	لا	-2.72	0.006*	نعم
قائمة عدم التسور	-2.94	0.003*	نعم	-2.24	0.025*	نعم	-0.09	0.92	لا	-2.8	0.005*	نعم
الإعانة الوظيفية	-2.84	0.004*	نعم	-2.53	0.011*	نعم	-0.96	0.33	لا	-2.63	0.008*	نعم

الجدول 5: المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري لقيم القياسات عند مرضى المجموعة الثالثة (مجموعة A+HA+PRP) خلال فترات المتابعة المختلفة

	قبل المعالجة		بعد شهر		بعد 3 أشهر		بعد 6 شهور		بعد 12 شهر	
	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط	الانحراف المعياري	المتوسط
الألم عند المشي (VAS)	1.55	7.27	1.16	3.18	0.50	2.00	0.63	2.90	0.98	3.18
التعبية المصنعية (VAS)	1.62	3.36	0.98	7.18	0.82	7.54	0.80	7.50	0.67	6.63
الأسوت المصنعية (VAS)	1.80	6.45	1.04	2.90	0.46	2.27	0.87	2.18	1.16	3.18
قائمة عدم التسور (mm)	7.79	27.27	5.59	40.13	4.52	42.59	3.44	42.36	5.44	37.86
الإعانة أثناء الحركة (LTS)	0.93	2.45	0.60	0.72	0.53	0.59	0.46	0.72	0.83	1.13

الجدول 6: يبين قيم Z لاختبار Wilcoxon ومستوى الدلالة الخاصة بكل زوج من أزواج المقارنة كل فترة مراقبة مع سابقتها والقرار الاحصائي فيما إذا كان هناك فرق في مجموعة A+HA+PRP

المقارنة بين فترتي	المقارنة بين فترتي			المقارنة بين فترتي			المقارنة بين فترتي			المتغير		
	بعد 12 شهر - بعد 6 أشهر	بعد 6 أشهر - بعد 3 أشهر	بعد 3 أشهر - بعد شهر	بعد 12 شهر - بعد 6 أشهر	بعد 6 أشهر - بعد 3 أشهر	بعد 3 أشهر - بعد شهر	بعد 12 شهر - بعد 6 أشهر	بعد 6 أشهر - بعد 3 أشهر	بعد 3 أشهر - بعد شهر			
الألم عند المضغ	0.01*	-2.39	✓	0.89	-2.13	✓	0.01*	-2.41	✓	0.003*	-2.96	✓
التهاب المضغ	0.025*	-2.24	✓	0.65	-0.44	✓	0.10	-1.63	✓	0.003*	-2.96	✓
إحصائية عند المقارنة بين الفترتين (بعد شهر - قبل المعالجة)	0.034*	-2.12	✓	0.25	-1.13	✓	0.08	-1.73	✓	0.003*	-2.96	✓

الألم عند المضغ: أنخفض متوسط الألم عند المضغ بشكل ملحوظ في المجموعات خلال فترات المتابعة بالمقارنة مع المتوسط قبل المعالجة (الجدول 1، 3، 5) وكان الفرق ذو دلالة إحصائية عند المقارنة بين الفترتين (بعد شهر - قبل المعالجة) وعند قيمة $P < 0.05$ وذلك في كل المجموعات، إلا أن المتوسط عاد للزيادة في مجموعة HA في فترات المتابعة الأخيرة (بعد ستة أشهر وبعد سنة) وكانت هذه الزيادة ذات دلالة إحصائية عند مقارنة هاتين الفترتين بالفترات المراقبة السابقة لكل منهما، واقتربت قيمة المتوسط في نهاية المتابعة من القيمة قبل المعالجة إلا أنها بقيت أقل منها. على عكس مجموعة A+HA+PRP حيث استمر المتوسط في الانخفاض حتى فترة المتابعة بعد 6 أشهر، وطرأت الزيادة على هذا المتوسط في نهاية المتابعة ولكن بقي بعيداً عن قبل المعالجة بكثير (الجدول 5)، أما في مجموعة A+HA استمر النقصان في متوسط القيم حتى بعد 6 أشهر ولكن عند نقطة المتابعة الأخيرة بعد سنة لوحظ عودة المتوسط للارتفاع واقتربه من المتوسط قبل المعالجة (الجدول 3)، وكانت الفروق ذات دلالة إحصائية عند المقارنة بين كافة الفترات مع سابقتها (الجدول 4).

الفعالية المضغية: في هذا المتغير كان المتوقع هو الزيادة، وكانت الفروق بين المتوسطات ذات دلالة إحصائية عند مقارنة الفترات (بعد شهر - قبل المعالجة)

$P < 0.05$ في المجموعات الثلاث (الجدول 1، 3، 5). استمرت الزيادة في متوسط الفعالية المضغية في مجموعة A+HA+PRP حتى بعد 6 أشهر (جدول 5)، بينما انخفض في مجموعة HA ومع فرق ذو دلالة إحصائية عند المقارنة بين الفترة بعد 6 أشهر والفترة السابقة لها وفي مجموعة A+HA عاد متوسط المتغير للنقصان مع فرق ذو دلالة إحصائية عند المقارنة بين الفترتين (بعد سنة - بعد 6 أشهر)، بقيت قيمة المتوسطات في كل فترات المتابعة أعلى من المتوسط قبل المعالجة.

الأصوات المفصالية: على غرار ما حدث في متغير الألم، كان الانخفاض في فترات المتابعة الأولى، ولكن القيم ازدادت في مجموعة HA بعد 6 أشهر بينما استمرت في الانخفاض في مجموعتي A+HA و A+HA+PRP حتى بعد 6 أشهر من المتابعة.

فتحة الفم القصوى: كما في متغير الفعالية المضغية فإنه يجب على المتوسط أن يرتفع بعد المعالجة وهذا ما حدث في كل المجموعات، حيث أنه في مجموعة HA تحققت الزيادة في فتحة الفم القصوى بعد شهر عما كانت عليه قبل المعالجة ومع فرق ذي دلالة إحصائية، واستمرت بعد 3 أشهر ولكن لم يكن الفرق ذو دلالة عند المقارنة بين بعد 3 أشهر - بعد شهر، وكان الفرق ذو دلالة عند المقارنة بين (بعد 6 أشهر - بعد 3 أشهر) و (بعد 12 شهر - بعد 6 أشهر) ولكن هذه المرة كان المتوسط باتجاه التناقص.

أما في مجموعة A+HA فنلاحظ من الجدول 3 ارتفاعاً في المتوسطات حتى المتابعة بعد 6 أشهر وانخفاضاً في نقطة المتابعة بعد سنة ومع فروق دالة إحصائية في كافة المقارنات ما عدا (بعد 6 أشهر - بعد 3 أشهر) حيث كانت الزيادة طفيفة وغير دالة إحصائياً.

وفي مجموعة A+HA+PRP الزيادة كانت كبيرة واستمرت في الفترة بعد شهر وبعد 3 أشهر مع فروق ذات دلالة إحصائية عند مقارنة هذه الفترات مع الفترات السابقة لكل

منهما، وأيضاً في نهاية المتابعة طرأ انخفاض على قيمة المتوسط ولكنه بقي بعيداً عن قيمته قبل المعالجة.

الإعاقة الوظيفية: انخفض متوسط الإعاقة مع وجود فروق ذات دلالة إحصائية في فترة المتابعة الأولى لكنها عادت إلى الزيادة بعد 6 أشهر في مجموعة HA وبعد 12 شهر في مجموعتي A+HA و A+HA+PRP وبقيت أفضل بكثير من الفترة قبل المعالجة في هذه مجموعة A+HA+PRP.

المقارنة بين مجموعة HA ومجموعة A+HA:

بالعودة إلى الجداول 1 و 3 نلاحظ أن المتوسطات قبل المعالجة كانت متقاربة في المجموعتين دون وجود فروق ذات دلالة إحصائية عند المقارنة بين المجموعتين في هذه الفترة (الجدول 7). وكانت كافة المتوسطات أفضل في مجموعة A+HA في فترات المتابعة الأخيرة (بعد 6 أشهر وبعد سنة)، مع فروق ذات دلالة إحصائية في مجموعة من المتغيرات بعد 6 أشهر ووجود فرق ذو دلالة إحصائية بعد سنة في متغير الألم عند المضغ وهذا ما يعطي مجموعة الحقن التالي للغسل أفضلية في النتائج عن مجموعة HA

الجدول 7: يبين قيم Z لاختبار Mann-Whitney U وقيمة مستوى الدلالة لكافة

المتغيرات عند المقارنة بين المجموعتين (HA & A+HA) قبل المعالجة وبعد ستة أشهر وبعد

12 شهر والقرار فيما إذا كان هناك فرق أم لا

المتغير	قبل المعالجة			بعد 6 أشهر			بعد 12 شهر		
	Z	p-value	نوع فرق	Z	p-value	نوع فرق	Z	p-value	نوع فرق
الألم عند المضغ	-0.139	0.890	لا	-2.329	0.02*	نعم	-1.992	0.046*	نعم
العملية التصفية	-0.439	0.611	لا	-2.212	0.027*	نعم	-1.618	0.106	لا
الأسوات المفصلة	-0.684	0.494	لا	-1.944	0.052	لا	-0.648	0.517	لا
قنحة لغم التصوير	-0.460	0.645	لا	-2.010	0.044*	نعم	-1.646	0.1	لا
الإعاقة الوظيفية	-0.242	0.808	لا	-1.704	0.088	لا	-0.425	0.671	لا

المقارنة بين مجموعة HA ومجموعة A+HA+PRP:

عند مقارنة مجموعة A+HA+PRP مع المجموعة الشاهدة في الفترة قبل المعالجة لم يلاحظ وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين متوسطات المجموعتين إلا أنه يمكن الملاحظة أن متوسطات المتغيرات (الألم عند المضغ والأصوات المفصالية والإعاقة الوظيفية) كانت أعلى في مجموعة A+HA+PRP عما كانت عليه في مجموعة HA وأيضاً متوسطات المتغيرات (الفعالية المضغية وفتحة الفم القصوى) كانت أقل في مجموعة A+HA+PRP من مجموعة HA، ومع ذلك فقد كانت كل هذه المتوسطات على العكس من ذلك في فترة المتابعة بعد 6 أشهر مع فروق ذات دلالة في كل المتغيرات، وذات المنحى أيضاً في فترة بعد 12 شهر أي أن المتوسطات كانت أفضل بعد سنة ومع وجود فروق إحصائية في كل المتغيرات عدا اثنتين هما فتحة الفم القصوى والأصوات المفصالية (الجدول 8).

الجدول 8: يبين قيم Z لاختبار Mann-Whitney U وقيمة مستوى الدلالة لكافة المتغيرات عند المقارنة بين المجموعتين (HA & A+HA+PRP) قبل المعالجة وبعد ستة أشهر وبعد 12 شهر والقرار فيما إذا كان هناك فرق أم لا

المتغير	قبل المعالجة			بعد 6 أشهر			بعد 12 شهر		
	يوجد فرق	p-value	Z	يوجد فرق	p-value	Z	يوجد فرق	p-value	Z
الألم عند المضغ	لا	0.2	-1.281	نعم	0.004*	-2.850	نعم	0.001*	-3.205
الفعالية المضغية	لا	0.028*	-2.198	نعم	0.003*	-2.964	نعم	0.003*	-2.963
الأصوات المفصالية	لا	0.316	-1.002	نعم	0.01*	-2.570	لا	0.141	-1.473
فتحة الفم القصوى	لا	0.278	-1.085	نعم	0.025*	-2.241	لا	0.131	-1.512
الإعاقة الوظيفية	لا	0.169	-1.377	نعم	0.026*	-2.221	نعم	0.043*	-2.026

المناقشة: تتنوع الاضطرابات التي تصيب المفصل الفكي الصدغي ومن أهمها التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي TMJ-OA والذي تؤدي الإصابة به إلى حدوث التخرب التدريجي المترافق أعراض أهمها الألم المترافق مع الوظيفة إضافة إلى الأصوات المفصالية والإعاقة الوظيفية والتي تؤدي بمجملها إلى حدوث نقص في الفعالية المضغية وهي الوظيفة الرئيسية للجهاز الماضغ [24].

يوجد في الأدب الطبي العديد من الطرق والمناهج المعتمدة في تدبير هذا الاضطراب ومن ضمنها غسل المفصل وإجراء الحقنات بالمفصل الفكي الصدغي والتي تضمنت مواد كحمض الهيالورونيك والبلازما الغنية بالصفائح وذكر لهذه الإجراءات نتائج مهمة وعالية في تحسين الأعراض الناجمة عن TMJ-OA، وتمتع كل إجراء بصفات وخصائص معينة ولكن لوحظ في المراجعة الأدبية تنوع واختلافات في البروتوكولات المدروسة من حيث المواد المحقونة والمشاركات ومواعيد وكمية الحقن والتي كانت تهدف دائماً لإيجاد البروتوكول المناسب والأفضل في هذا المجال وقد دعت جل الأبحاث إلى القيام بدراسات متعددة تتضمن جديداً من حيث مشاركة الإجراءات للاستفادة من خواصها مجتمعة [9, 25, 26].

ومن هنا هدفت هذه الدراسة إلى التحقق العلمي من الفوائد التي توفرها المشاركة بين غسل المفصل وحقن HA من جهة ومشاركة الغسل مع حقن HA و PRP.

والجدير بالذكر أن إجراء المزج أو المشاركة بين حقن HA و PRP في علاج TMJ-OA وبناءً على مراجعتنا النظرية لم يذكر في الأدب الطبي العالمي ولكنه تم إجراؤه في معالجة التهاب الركبة التنكسي Knee-OA وقورن مع حقن HA لوحده وأظهر نتائج آمنة وواعدة ومتفوقة على حقن HA لوحده في الترميم وإعادة الوظائف وتحسين الأعراض ومنها دراسة Zhao et al., 2020 [27].

مناقشة نتائج متغيرات الدراسة:

تحقق التحسن في متغير الألم في كل المجموعات وكان المتوسط أقل في كل فترات المراقبة عما كان عليه في فترة قبل المعالجة ولكن كان الملاحظ أن قيمة المتوسط في مجموعة HA بدأت بالارتفاع منذ الشهر السادس للمتابعة على خلاف باقي المجموعات التي لوحظ الارتفاع في المتوسط عند نقطة المتابعة بعد 12 شهر حيث وفي نقطة المتابعة بعد 6 أشهر كان متوسط المتغير 2.45 في مجموعة A+HA وقبل المعالجة 6.59 وهذا يتوافق مع ما ذكره Mario Santagata وآخرون في دراستهم حول تأثير المشاركة بين غسل المفصل وحقن حمض الهيالورونيك في علاج اضطرابات المفصل الفكي الصدغي والمتضمن TMJ-OA حيث قارنوا بين قبل العلاج وبعد 6 أشهر فقط [28]. وحققت مجموعة A+HA+PRP نتائج أفضل من باقي المجموعات وخاصة مجموعة HA وهي المجموعة الشاهدة، وكانت الفروق دالة إحصائياً عند مقارنة مجموعتي الدراسة مع المجموعة الشاهدة في الفترتين بعد 6 أشهر وبعد 12 شهر. ومما سبق يمكن ملاحظة تأثير مشاركة المعالجات في إنقاص الألم عند المضغ الأمر الذي يعني الكثير للمرضى الذين يعانون من أمراض المفصل بشكل عام ومن التهاب المفصل التتكسي بشكل خاص.

أيضاً الفعالية المضغية انخفضت في كل المجموعات وكانت الأفضلية في ذلك من نصيب مجموعة A+HA+PRP والتي كانت الفرق بينها وبين مجموعة HA ذو دلالة إحصائية في الفترتين بعد أشهر وبعد 12 شهر على خلاف مجموعة A+HA التي كان الفرق بينها وبين مجموعة HA ذو دلالة إحصائية في الفترة بعد 6 شهر فقط وعليه فإن المجموعة التي عولج مرضاها بمشاركة الإجراءات الثلاث حققت نتائج أفضل وطويلة المدى ويمكن المقارنة مع ما ذكره (Cömert Kiliç, 2016) في دراسته على 31 مريضاً والتي قارنت بين الغسل مع حقن HA وبين الغسل مع حقن PRP حيث ذكر أن كلا الطريقتين كانتا فعاليتين في معالجة TMJ-OA ووفرا تحسناً كبيراً في كل المعايير المدروسة ودون وجود فروق إحصائية بينهما بعد سنة من المتابعة [29].

وبمقاربة مشابهة لمتغير الألم فإن مجموعة A+HA+PRP حققت نتائج أفضل من مجموعة HA من ناحية التأثير على الأصوات المفصالية المرافقة لـ TMJ-OA وربما يعود ذلك للفوائد التي يوفرها كل إجراء فيما لو تم لوحده. في هذا الشأن نتفق مع كل من (Bergstrand) و (Kiliç) حيث ذكروا في دراساتهم انخفاضاً في الأصوات المفصالية في مشاركات لأكثر من علاج عند مرضى TMJ-OA [29], [30].

أيضاً في متغير فتحة الفم القصى فقد حققت كل المجموعات تحسناً ملحوظاً ولكن يبدو أن المشاركة بأكثر من إجراء كان أفضل من حقن HA لوحده خاصة المجموعة التي شملت حقن HA و PRP وهنا نتفق مع مختلف الأبحاث التي درست الغسل أو حقن HA أو PRP في علاج TMJ-OA حيث ذكر جُلها الفوائد التي نحصل عليها في مجال زيادة فتحة ومنهم Bouloux و Guarda-Nardini [31, 32].

وعند المقارنة بين مجموعة A+HA+PRP والمجموعة الشاهدة كان هناك فروق ذات دلالة إحصائية في الفترتين بعد 6 أشهر وبعد 12 شهر وكانت كذلك فقط بعد 12 شهر عند مقارنة مجموعة A+HA مع مجموعة HA أي أن مجموعات الدراسة كانت أفضل وذلك من حيث إنقاص الإعاقة الوظيفية وأن المجموعة التي شملت كل الإجراءات كانت الأفضل، ويتوافق هذا الكلام مع ما ورد في دراسة Chung التي أكدت على أن كل من غسل المفصل أو حقن HA أو حقن PRP يساعد في تحسين الأعراض المرافقة لـ TMJ-OA وأن إضافة حقن PRP للغسل سوف يعطي نتائج متفوقة على حقن HA أو عدم الحقن [26].

الاستنتاجات:

إن حقن حمض الهيالورونيك HA لوحده أو حقن حمض الهيالورونيك التالي لغسل المفصل أو حقن HA و PRP بشكل تالي لعملية الغسيل حقق نتائج جيدة وواعدة عن

فترة ما قبل المعالجة فيما يتعلق بمعالجة TMJ-OA وذلك في مختلف فترات المراقبة. ووجدنا بالمجمل تفوق لمشاركة الحقن والغسل عند مقارنتها مع HA لوحده مع وجود فروق ذات دلالة إحصائية بكافة المتغيرات بعد 6 أشهر ووجدنا أيضاً أن إضافة الـ PRP للعلاج قد يعطي نتائج أفضل وأكثر ديمومة.

التوصيات:

تضمين حقن حمض الهyalورونيك HA ومشاركته مع حقن البلازما الغنية بالصفائح PRP بشكل تالي لعملية غسل المفصل الفكي الصدغي Arthrocentesis في خطط معالجة وتدبير التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي TMJ-OA.

اتباع بروتوكولات المعالجة المتبعة في هذه الدراسة من حيث الكميات والمدة بين الجلسات حيث أثبتت فعاليتها في المعالجة.

الاقتراحات:

إجراء دراسات مقارنة بين بروتوكولات مختلفة لغسل وحقن المفصل الفكي الصدغي لتدبير التهاب المفصل الفكي الصدغي التنكسي.

المراجع:

- .1 Okeson, J.P., *Management of temporomandibular disorders and occlusion-E-book*. 2019: Elsevier Health Sciences.
- .2 Goiato, M.C., et al., *Are intra-articular injections of hyaluronic acid effective for the treatment of temporomandibular disorders? A systematic review*. International journal of oral and maxillofacial surgery, 2016. **45**(12): p. 1531-1537.
- .3 Campos, M., et al., *Analysis of magnetic resonance imaging characteristics and pain in temporomandibular joints with and without degenerative changes of the condyle*. International journal of oral and maxillofacial surgery, 2008. **37**(6): p. 529-534.
- .4 Tanaka, E., et al., *Effectiveness of low-intensity pulsed ultrasound on osteoarthritis of the temporomandibular joint: a review*. Annals of biomedical engineering, 2020. **48**(8): p. 2158-2170.
- .5 Lei, J., et al., *Degenerative temporomandibular joint changes associated with recent-onset disc displacement without reduction in adolescents and young adults*. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 2017. **45**(3): p. 40.413-8
- .6 Brooks, S.L., et al., *Prevalence of osseous changes in the temporomandibular joint of asymptomatic persons without internal derangement*. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, 1992. **73**(1): p. 118-122.
- .7 Møystad, A., B.B. Mork-Knutsen, and T. Bjørnland, *Injection of sodium hyaluronate compared to a corticosteroid in the treatment of patients with temporomandibular joint osteoarthritis: a CT evaluation*. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 2008. **10**:(2)5p. e53-e60.
- .8 Machoň, V., et al., *Platelet-rich plasma in temporomandibular joint osteoarthritis therapy: a 3-month follow-up pilot study*. J Arthritis, 2013. **2**(2): p. 2-5.
- .9 Kalladka, M., et al., *Temporomandibular joint osteoarthritis: diagnosis and long-term conservative management: a topic review*. The Journal of Indian Prosthodontic Society, 2014. **14**(1): p. 6-15.

- .10 Gencer, Z.K., et al., *A comparative study on the impact of intra-articular injections of hyaluronic acid, tenoxicam and betametazon on the relief of temporomandibular joint disorder complaints*. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 2014. **42**(7): p. 1117-1121.
- .11 Su, N., et al., *Evaluation of arthrocentesis with hyaluronic acid injection plus oral glucosamine hydrochloride for temporomandibular joint osteoarthritis in oral-health-related quality of life*. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 2014. **42**(6): p. 846-851.
- .12 Guarda-Nardini, L., et al., *Predictive factors of hyaluronic acid injections short-term effectiveness for TMJ degenerative joint disease*. Journal of oral rehabilitation, 2011. **38**(5): p. 315-320.
- .13 Bjørnland, T., A. Gjaerum, and A. Møystad, *Osteoarthritis of the temporomandibular joint: an evaluation of the effects and complications of corticosteroid injection compared with injection with sodium hyaluronate*. Journal of oral rehabilitation, 2007. **34**(8): p. 583-589.
- .14 Hegab, A.F., et al., *Platelet-rich plasma injection as an effective treatment for temporomandibular joint osteoarthritis*. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2015. **73**(9): p. 1706-1713.
- .15 Nitzan, D.W., *Arthrocentesis—incentives for using this minimally invasive approach for temporomandibular disorders*. Oral and Maxillofacial Surgery Clinics, 2006. **18**(3): p. 311-328.
- .16 Tvrdy, P., P. Heinz, and R. Pink, *Arthrocentesis of the temporomandibular joint: a review*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2015. **159**(1): p. 31-4.
- .17 Guarda-Nardini, L., D. Manfredini, and G. Ferronato, *Arthrocentesis of the temporomandibular joint: a proposal for a single-needle technique*. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 2008. **106**(4): p. 483-486.
- .18 Mehra, P. and V. Arya, *Temporomandibular joint arthrocentesis: outcomes under intravenous sedation versus general anesthesia*. Journal of oral and maxillofacial surgery, 2015. **73**(5): p. 834-842.
- .19 Guarda-Nardini, L., et al., *A one-year case series of arthrocentesis with hyaluronic acid injections for temporomandibular joint osteoarthritis*. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 2007. **103**(6): p. e14-e22.
- .20 Shimizu, M., et al., *Clinical and biochemical characteristics after intra-articular injection for the treatment of osteoarthritis of the knee: prospective randomized study of sodium hyaluronate and corticosteroid*. Journal of orthopaedic science, 2010. **15**(1): p. 51-56.
- .21 Triantafyllidou, K., G. Venetis, and O. Bika, *Efficacy of hyaluronic acid injections in patients with osteoarthritis of the temporomandibular joint. A comparative study*. Journal of Craniofacial Surgery, 2013. **24**(6): p. 2006-2009.
- .22 Marx, R.E., *Platelet-rich plasma: evidence to support its use*. Journal of oral and maxillofacial surgery, 2004. **62**(4): p. 489-496.
- .23 Hanci, M., et al., *Intra-articular platelet-rich plasma injection for the treatment of temporomandibular disorders and a comparison with arthrocentesis*. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 2015. **43**(1): p. 162-166.
- .24 Wang, X., et al., *Current understanding of pathogenesis and treatment of TMJ osteoarthritis*. Journal of dental research, 2015. **94**(5): p. 666-673.
- .25 Iturriaga, V., et al., *Effect of hyaluronic acid on the regulation of inflammatory mediators in osteoarthritis of the temporomandibular joint: a systematic review*. International journal of oral and maxillofacial surgery, 2017. **46**(5): p. 590-595.
- .26 Chung, P.-Y., M.-T. Lin, and H.-P. Chang, *Effectiveness of platelet-rich plasma injection in patients with temporomandibular joint osteoarthritis: a systematic review and meta-*

- analysis of randomized controlled trials. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 2019. **127**(2): p. 106-116.
- .27 Zhao, J., et al., *Effects and safety of the combination of platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronic acid (HA) in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis*. BMC musculoskeletal disorders, 2020. **21**(1): p. 1-12.
- .28 Santagata, M., et al., *Arthrocentesis and sodium hyaluronate infiltration in temporomandibular disorders treatment. Clinical and MRI evaluation*. Journal of Functional Morphology and Kinesiology, 2020. **5**(1): p. 18.
- .29 Kiliç, S.C. and M. Güngörmüş, *Is arthrocentesis plus platelet-rich plasma superior to arthrocentesis plus hyaluronic acid for the treatment of temporomandibular joint osteoarthritis: a randomized clinical trial*. International journal of oral and maxillofacial surgery, 2016. **45**(12): p. 1538-1544.
- .30 Bergstrand, S., et al., *Long-term effectiveness of arthrocentesis with and without hyaluronic acid injection for treatment of temporomandibular joint osteoarthritis*. Journal of oral science, 2019. **61**(1): p. 82-88.
- .31 Bouloux, G.F., et al., *Is hyaluronic acid or corticosteroid superior to lactated ringer solution in the short-term reduction of temporomandibular joint pain after arthrocentesis? Part 1*. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2017. **75**(1): p. 52-62.
- .32 Guarda-Nardini, L., et al., *Effectiveness of treatment with viscosupplementation in temporomandibular joints with or without effusion*. International journal of oral and maxillofacial surgery, 2014. **43**(10): p. 1218-1223.