



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية طب الأسنان

قسم النسيج والتشريح المرضي

دراسة تأثير السكري المستحدث على النمو الوعائي البطني في الغدد اللعابية عند الأرانب

**Investigation the affection of induced diabetes mellitus on the vascular  
endothelial growth in the salivary glands of rabbits**

بحث علمي أعدّ لنيل درجة الماجستير في علوم طب الأسنان  
اختصاص النسيج والتشريح المرضي الفموي

اعداد الباحث : محمد أنور خطاب

إشراف

الأستاذ المساعد الدكتور نبيل قوشجي  
أستاذ في قسم النسيج والتشريح المرضي  
كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

## ﺗﺼﺮﯨﺢ

ﻻ ﻳﻮﺟﺪ ﺃﻱ ﺟﺰﺀ ﻣﻦ ﻫﺬﺓ ﺍﻻﻃﺮﻭﺤﺔ ﺗﻢ ﺁﺧﺬﻩ ﺑﺎﻟﻜﺎﻣﻞ ﻣﻦ ﻋﻤﻞ ﺁﺧﺮ ﺃﻭ ﺁﻧﺠﺰ ﻟﻠﺤﺼﻮﻝ ﻋﻠﻰ  
ﺷﻬﺎﺩﺓ ﺁﺧﺮﻯ ﻓﻲ ﻫﺬﺓ ﺍﻟﺠﺎﻣﻌﺔ ﺃﻭ ﻓﻲ ﺃﻱ ﺟﺎﻣﻌﺔ ﺁﺧﺮﻯ ﺃﻭ ﻣﻌﻬﺪ ﺗﻌﻠﯿﻤﻲ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أَفْرَأَى قَارِئِينَ كِتَابٍ كَرِيمٍ \* الَّذِينَ يُتْلَى عَلَيْهِمْ آيَاتُ الْقُرْآنِ فَهُمْ لَا يُفْقَهُونَ \* الَّذِينَ يُتْلَى عَلَيْهِمْ آيَاتُ الْقُرْآنِ فَهُمْ لَا يُفْقَهُونَ \* الَّذِينَ يُتْلَى عَلَيْهِمْ آيَاتُ الْقُرْآنِ فَهُمْ لَا يُفْقَهُونَ \*

قُرْآنٍ كَرِيمٍ

## كلمة شكر

الحمد لله الذي بفضلہ تمكنت من إتمام هذه الرسالة، واتمنى أن ترقى إلى المستوى المطلوب وتكون خطوة موفقة في مسيرتي العلمية.

بادئ ذي بدء أتقدم بالشكر الجزيل لأستاذي المشرف الدكتور نبيل قوشجي لرعايته ودعمه المستمرين لي طوال مرحلة الدراسات العليا، فكان خير أستاذ و خير معلم، شرع لي أبوابه ولم يبخل علي بالمساعدة والنصح، وهذا ما عهده منه كل طلابه محباً للعلم ، ساعياً في مسيرة تطويره.

كما أود أن أتقدم بفائض الشكر و الامتنان للأستاذ الدكتور أحمد مناديلي نقيب المعلمين في جامعة دمشق والأستاذ في قسم النسيج والتشريح المرضي بكلية طب الأسنان لتفضله مشكوراً بتحكيم هذه الرسالة و إغنائها بنصحه ومشورته.

كما أتقدم بالشكر للأستاذ الدكتور رشاد مراد الاستاذ المساعد في علم الأدوية في كليتي الصيدلة و طب الأسنان بجامعة دمشق، رئيس فرع دمشق لنقابة أطباء الأسنان .

كما أتوجه بجزيل الشكر لأستاذي الدكتور شريف بركات رئيس قسم النسيج و التشريح المرضي في كلية طب الأسنان بجامعة دمشق على دعمه و لتشجيعه.

كما أود أن أشكر الأستاذ الدكتور محمد سالم ركاب عميد الكلية ، والأستاذ الدكتور عمار مشلح وكيل الكلية للشؤون العلمية ، والأستاذ الدكتور محمد إياد الحفار وكيل الكلية للشؤون الإدارية و ذلك للجهود الكبيرة التي يبذلونها لتسهيل إنجاز البحث العلمي.

كما أشكر جميع الأساتذة في قسم النسيج و التشريح المرضي و كل الشكر لأصدقائي طلاب الدراسات العليا و السيد ناصر كتابي .

كل الشكر و الامتنان للأخ الدكتور خالد زيد على جهده معي في انجاز المراحل العمليّة من البحث .

## الأولاد:

إلى معلمي الأول و مثلي الأعلى ، من رباني على حب العلم، و انشأني على فطرة الإيمان  
أبي....

إلى نبع الحب و الحنان ، من جعل الله الجنة تحت قدميها ، من علمتني حروف الهجاء الأولى  
أمي....

إلى من قاسمتني مرارة الأيام والساعات ، من وهبت حياتها رخيصة من أجلي ،شريكة الروح و الجسد.  
زوجتي...

إلى أعلى هدية من الخالق..... من ينتظره القلب قبل العين .....أسأل الله العلي القدير حسن الخلق  
والخلق....  
ابني رواد.....

إلى من يشتد بهم أزري و تقوى بهم عزيمتي، من شجعوني و دعموني بانتظار هذا اليوم  
أخوتي...

إلى من قضيت معهم أحلى الأيام و حملت مخيلتي عنهم أجمل الذكريات ، من تزداد الحياة بوجودهم بهجة  
و سعادة

زملائي و أصدقائي...

إلى كل هؤلاء أهدي هذا الجهد المتواضع

## جدول المحتويات

9	قائمة بالجداول التوضيحية
10	قائمة الاشكال التوضيحية
11	قائمة المخططات التوضيحية
12	المقدمة :
13	الهدف من البحث
14	الباب الأول : المراجعة النظرية literature review
15	1 : مرض السكرى
16	1-1 التصنيف
17	1-1-1 سكرى النمط الأول
18	2-1-1 سكرى النمط الثانى
21	3-1-1 الأنماط الأخرى من السكرى
21	2-1 العلامات والأعراض
23	3-1 الجينات والسكرى
24	4-1 التشخيص
26	5-1 المظاهر الفموية للسكرى
28	6-1 التنشؤ الوعائى و السكرى :
29	2- عامل النمو الوعائى البطانى
29	1-2 التنشؤ الوعائى وأهمية عامل النمو الوعائى البطانى VEGF:
31	2-2 منشطات ومثبطات التنشؤ الوعائى Activators and inhibitors of angiogenesis :
31	3-2 مراجعة تاريخية لاكتشاف عامل النمو الوعائى البطانى :
32	3 - الغدد اللعابية Salivary Glands:

32	1-3 أنواع الغدد اللعابية:.....
32	2-3 لمحة نسيجية عامة عن الغدد اللعابية Histology : .....
34	1-2-3 الخلايا المفرزة Secretory Cells:.....
34	1-1-2-3 الخلايا المصلية Serous cells:.....
34	2-1-2-3 الخلايا المخاطية Mucous cells:.....
35	2-2-3 الجهاز القنيوي Ductal System:.....
36	3-2-3 الخلية العضلية البشرية Myoepithelial cell:.....
37	4-2-3 النسيج الضام Connective Tissue:.....
38	3-3 لمحة تشريحية ونسيجية لكلّ غدة لعابية:.....
38	1-3-3 الغدة النكفية Parotid Gland:.....
38	2-3-3 الغدة تحت الفك السفلي Submandibular Gland:.....
39	3-3-3 الغدة تحت اللسان Sublingual Gland:.....
40	4-3-3 الغدد اللعابية الثانوية Minor Salivary Glands : .....
40	4-3 البنية التشريحية للغدد اللعابية عند الأرناب:.....
42	5-3 القالب خارج الخلوي للنسيج الضام Extracellular Matrix of Connective Tissue .....
42	6-3 أهم مكونات القالب خارج الخلوي Extracellular Matrix Components:.....
43	4- السكرى و الغدد اللعابية .....
45	5- إحداث السكرى بالأوكسان.....
46	6- مشعر الانقسام الخلوي Ki67 .....
47	الباب الثاني : المواد و الطرئق Materials and Methods .....
48	1 - مواد البحث .....

48	1-1 حيوانات التجربة.....
48	2-1 مرافق الدراسة.....
50	3-1 عينة البحث.....
50	4-1 المواد والأدوات المستخدمة في إحداث السكرّي عند حيوانات التجربة.....
50	1-4-1 المواد:.....
50	2-4-1 الأدوات:.....
52	3-4-1 مواد التلوين النسيجي التقليدي والمناعي.....
52	4-4-1 الأجهزة والأدوات المستخدمة.....
53	1-2 بروتوكول إحداث السكرّي عند حيوانات التجربة.....
55	2-2 أخذ العينات.....
56	3-2 تحضير العينات والتلوين النسيجي التقليدي (هيماتوكسيلين - إيوزين).....
59	4-2 تلوين العينات بالكاشف المناعي.....
65	5-2 معايير قياس الدراسة النسيجية المناعية:.....
66	2- 6 : الدراسة الاحصائية.....
66	1-6-2 اختبار ستودنت لعينتين مستقلتين (Two Independent Samples Student Test):.....
66	2-6-2: معامل ارتباط بيرسون :.....
68	<b>الباب الثالث : النتائج Results</b> .....
69	1 - وصف العينة:.....
69	1-1 توزع الأرناب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكرّي:.....
70	2-1 : توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكرّي:.....
71	3-1 توزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكرّي:.....
72	2: نتائج الدراسة النسيجية المناعية لمون VEGF :.....

74	2- 1 : الدراسة الاحصائية لملون VEGF .....
77	2- 2: دراسة نسبة الأوعية الدموية المستحدثة: .....
79	3 : نتائج الدراسة النسيجية المناعية لملون Ki67 : .....
81	3- 1 : الدراسة الاحصائية لملون Ki67 : .....
84	3: العلاقة بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF: .....
86	الباب الرابع: المناقشة Discussion .....
88	1 - عامل التشو الوعائي البطاني VEGF : .....
89	2 - مشعر الانقسام الخلوي Ki67 .....
90	3 - العلاقة بين تعبيرية الواسمين Ki67 و VEGF .....
92	الباب الخامس : الاستنتاجات Conclusions .....
94	الباب السابع : المقترحات و التوصيات .....
96	الملخص .....
100	الباب السابع : المراجع .....

## قائمة بالجداول التوضيحية

الصفحة	رقم الجدول
18	جدول رقم (1) : النمط الأول من السكري
21-20	جدول رقم (2) مقارنة بين النمطين الأول والثاني من السكري (Alberti et al., 2004)
69	جدول رقم (3) يبين توزع الأرناب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري
70	جدول رقم (4) يبين توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.
71	جدول رقم (5) يبين توزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري
74	جدول رقم (6) يوضح أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بتعبيرية الملون VEGF
75	جدول رقم (7) نتائج اختبار ستيودنت في مجموعة VEGF
76	جدول رقم (8) نتائج اختبار ستيودنت بين العينات المستقلة و في كامل العينة لل VEGF
77	جدول رقم (9) يبين أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بنسبة الأوعية الدموية المستحدثة VEGF
78	جدول رقم (10) نتائج اختبار ستيودنت لدراسة الفروق في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة
79	جدول رقم (11) نتائج اختبار ستيودنت لدراسة الفروق في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة بين الغدتين النكفية وتحت الفكية
81	جدول رقم (12) يبين أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بتعبيرية الملون Ki67
82	جدول رقم (13) يظهر الفروق في تعبيرية Ki67 بين المجموعة الشاهدة و المجموعة المصابة
83	جدول رقم (14) نتائج اختبار ستيودنت لتعبيرية Ki67 في كل من المجموعتين الشاهدة والمصابة وفي كامل العينة
84	جدول رقم (15) يظهر حساب معامل ارتباط بيرسون لدراسة الارتباط بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF

## قائمة الاشكال التوضيحية

رقم الشكل	الصفحة
الشكل (1) صورة ترسيمية توضح الوحدة الوظيفية في الغدة اللعابية (Berkovitz et al., 2002)	33
الشكل (2) صورة نسيجية تبين الخلايا المخاطية والمصلية في الغدة تحت الفك (Nanci, 2013)	35
الشكل (3) أنواع و أشكال الخلايا المكونة للغدد اللعابية	36
الشكل (4) حيوانات التجربة في الحواضن	49
الشكل (5) تأمين الغذاء والماء لحيوانات التجربة في الحواضن	49
الشكل (6) مادة الألوكسان	51
الشكل (7) الميزان الحساس	51
الشكل (8) جهاز معايرة السكر	51
الشكل (9) يوضح مراحل تحضير وحقن الألوكسان والغلوكوز	54
الشكل (10) مجموعة من الصور تبين مواقع الغدد اللعابية	55
الشكل (11) يبين فرن صهر الشمع والإدماج	57
الشكل (12) يبين المباشرة النسيجية	57
الشكل (13) يبين المحم المائي لفرش المقاطع النسيجية	57
الشكل (14) يبين فرن التجفيف	57
الشكل (15) يبين حمامات الكزبلول والكحول	58
الشكل (16) يبين حمامات الهيماتوكسيلين والأيوزين H&E	58
الشكل (17) يبين المقاطع النسيجية بعد تلوينها بالـ H&E	58
الشكل (18) يبين المجهر الضوئي المستخدم بالدراسة	59
الشكل (19) قلم لتحديد	61
الشكل (20) الممص المستخدم لتطبيق المواد على الشرائح	61
الشكل (21) الكيت المناعي المستخدم في التلوين	62
الشكل (22) غمر الشرائح ضمن محلول PBS	62
الشكل (23) إحاطة العينة النسيجية بقلم التحديد	62
الشكل (24) تطبيق Beroxidase /AP	63
الشكل (25) الضد الخاص بالـ VEGF	63
الشكل (26) يبين تطبيق الضد الخاص بـ Ki67	63
الشكل (27) تطبيق Poly Detector/HRP	64
الشكل (28) تحضير وتطبيق المحلول DAB substrate chromogen solution	64
الشكل (29) تلوين الشرائح بالهيماتوكسيلين	65

72	شكل (30) تعبيرية ملون VEGF في العينة الشاهدة ، تكبير ، غدة تحت فك، x100
73	شكل (31) تعبيرية ملون VEGF في عينة التجربة و غدة تحت الفك ، تكبير x100
73	شكل (32) تعبيرية ملون VEGF في الأوعية الدموية المستحدثة في العينة الشاهدة ، غدة نكفية، تكبير x400
73	شكل (33) تعبيرية ملون VEGF في الأوعية الدموية المستحدثة في عينة التجربة ، غدة نكفية، تكبير x400
80	شكل (34) تعبيرية ملون Ki67 في النسيج الضام للعينة الشاهدة ، غدة نكفية، تكبير x400
80	شكل (35) تعبيرية ملون Ki67 في النسيج الضام لعينة التجربة ، غدة نكفية، تكبير x400
80	شكل (36) تعبيرية ملون Ki67 في النسيج الضام للعينة الشاهدة ، غدة تحت فك، تكبير x400
80	شكل (37) تعبيرية ملون Ki67 في النسيج الضام لعينة التجربة ، غدة تحت فك، تكبير x400

#### قائمة المخططات التوضيحية

رقم المخطط	الصفحة
مخطط رقم (1) يمثل النسبة المئوية لتوزع الأرانب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.	69
مخطط رقم (2) يمثل النسبة المئوية لتوزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري	70
مخطط رقم (3) يمثل النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري	71
مخطط رقم (4) يظهر متوسطات تعبيرية VEGF في كل من الغدتين في عينة التجربة	75
مخطط رقم (5) يظهر متوسط نسبة الأوعية الدموية المستحدثة في كل من الغدة النكفية و تحت الفكية في مجموعتي الدراسة	77
مخطط رقم (6) يظهر متوسط تعبيرية Ki67 في كل من الغدة النكفية و تحت الفكية في مجموعتي الدراسة	82
مخطط رقم (7) يظهر العلاقة بين تعبيرية الملونين VEGF و Ki67	85

## المقدمة :

السكّري أو الداء السكّري Diabetes mellitus :هو مرض يتصف باضطراب الاستقلاب وارتفاع شاذ في تركيز سكر الدم وينجم عن عوز هرمون الأنسولين، أو انخفاض حساسية الأنسجة للأنسولين، أو كلا الأمرين (L M Tierney, 2002). يؤدي السكّري إلى مضاعفات خطيرة أو حتى الوفاة المبكرة. يعاني من مرض السكّري حوالي 347 مليون شخص حول العالم طبقاً لمنظمة الصحة العالمية عام 2011 (Danaei, 2011)G, 2011) والمرض في تزايد مستمر وسريع، وبحلول عام 2030 فإنه من المرجح أن يكون مرض السكّري السبب السابع للوفاة في العالم .

تعد الاختلالات الفمويّة الناجمة عن السكّري غير المضبوط متعددة و مخربة ، وتشمل هذه الاختلالات جفاف الفم وضخامة الغدّة النكفيّة و زيادة قابلية الإصابة بالإنتانات البكتيرية و الفيروسية و الفطرية اضافة إلى زيادة احتمال الإصابة بالنخور السنية و بطء شفاء الجروح و التهاب اللثة و آفات الانسجة الداعمة . ترتبط الغدد اللعابيّة بشكل مباشر بالهرمونات فقد اشارت العديد من الدراسات إلى التأثيرات المتبادلة بينها وبين البنكرياس ، كما بينت الدراسات التجريبية في آخر 25 عاماً أنّ السكّري يسبب تغييرات وظيفية واستقلابية في الغدد اللعابيّة الكبيرة .

تعدّ الاختلالات الوعائيّة المجهريّة في السكّري من الأسباب الرئيسيّة لعدد من الأمراض و الوفاة المبكرة لدى المرضى المصابين به ، و يعدّ عامل التنشؤ الوعائي البطاني VEGF وسيطاً خلوياً متعدد الوظائف يلعب دوراً رئيساً في إحداث الأمراضيات الناجمة عن الاختلالات الوعائيّة المجهريّة في السكّري .

## الهدف من البحث

1- تحري تعبيرية واسم عامل النمو الوعائي البطاني VEGF لدى الأرنب المصابة بداء السكري

2- تحري تعبيرية مشعر الإنقسام الخلوي Ki67 لدى الأرنب المصابة بداء السكري

الباب الأول:

المراجعة النظرية

literature review

## 1 : مرض السكرى

تقسّم منظمة الصحة العالمية السكرى إلى ثلاثة أنماط رئيسية وهي: سكرى النمط الأول وسكرى النمط الثانى وسكرى الحوامل. ولكل نمط أسبابه وأماكن انتشار في العالم. ولكن تتشابه كل أنماط السكرى في أنّ سببها هو عدم إنتاج كمية كافية من هرمون الأنسولين من قبل خلايا بيتا في المعثكلة ولكن أسباب عجز هذه الخلايا عن ذلك، تختلف باختلاف النمط. فسبب عجز خلايا بيتا عن إفراز الأنسولين الكافي في النمط الأول يرجع إلى تدمير (مناعي ذاتي) لهذه الخلايا في البنكرياس، بينما يرجع هذا السبب في النمط الثانى إلى وجود مقاومة الأنسولين في الأنسجة التي يؤثر فيها، أي أن هذه الأنسجة لا تستجيب لمفعول الأنسولين مما يؤدي إلى الحاجة لكميات مرتفعة فوق المستوى الطبيعي للأنسولين فتظهر أعراض السكرى عندما تعجز خلايا بيتا عن تلبية هذه الحاجة. أما سكرى الحوامل فهو مماثل للنمط الثانى من حيث أن سببه أيضاً يتضمن مقاومة الأنسولين لأن الهرمونات التي تُفرز أثناء الحمل يمكن أن تسبب مقاومة الأنسولين عند النساء المؤهلات وراثياً.

يمكن لمرض السكرى أن يسبب العديد من المضاعفات - وهي مضاعفات قصيرة أو طويلة المدى - فالمضاعفات قصيرة المدى هي نقص سكر الدم، الحمض الكيتوني أو غيبوبة فرط الأسمولية اللاكتيونية بسبب ارتفاع الضغط الاسموزي للدم. وتحدث هذه المضاعفات إذا كان المريض لا يلقى العناية الكافية. أما المضاعفات الخطيرة طويلة المدى فتشمل أمراض جهاز الدوران كالأمراض القلبية الوعائية، ويصبح احتمال الإصابة بها مُضاعفاً بوجود السكرى، كما تشمل المضاعفات حدوث قصور كلوي مزمن، تلف الشبكية الذي يمكنه أن يؤدي للعمى، التهاب الأعصاب وله أنواع كثيرة، تلف الشعيرات الدموية الذي يمكن أن يؤدي للعقم

وبطء التئام الجروح. ويمكن أن يؤدي بطء التئام الجروح - خصوصاً جروح القدمين - إلى الغنغرينة التي يمكن أن تؤدي إلى البتر.

فيمكن للرعاية الكافية للمرض بالإضافة إلى التأكد من التحكم في ضغط الدم وكذلك العوامل التي تؤثر في أسلوب الحياة بالإيجاب مثل التوقف عن التدخين وخفض الوزن والحفاظ على قوام رشيق أن تقلل من مخاطر المضاعفات التي سبق ذكرها. ويُعتبر مرض السكرى أهم مسبب للعمى بالنسبة للبالغين غير المسنين في العالم المتقدم وهو السبب الأول لبتر الأطراف بدون وجود إصابة فيها بالنسبة للبالغين أيضاً وكذلك فإن القصور الكلوي السكرى هو السبب الرئيسي الذي يتطلب تنقية الدم في الولايات المتحدة (Mailloux, 2007)

## 1-1 التصنيف

ويُعرف النمطان الرئيسيان المسببان لمرض السكرى بالنمط الأول والنمط الثاني. وقد حل مصطلح النمط الأول من السكرى محل العديد من المصطلحات السابقة مثل سكري الأطفال أو السكرى المعتمد على الأنسولين وبالمثل حل مصطلح النمط الثاني محل مصطلحات مثل سكري البالغين أو السكرى المرتبط بالبدانة أو السكرى غير المعتمد على الأنسولين وبخلاف هذين النمطين لا يوجد نظام تسمية قياسية متفق عليه لبقية الأنواع فمثلاً تسمى بعض الجهات النمط الثالث من السكرى بسكري الحوامل، وكذلك يوجد نمط آخر يُسمى النمط الأول من السكرى المقاوم للأنسولين، أو السكرى المضاعف، وهو في الواقع تطور للنمط الثاني من السكرى فأصبح المريض بحاجة لحقن الأنسولين. ويوجد نمط يُسمى سكري البالغين الذي تسببه مناعة ذاتية كامنة، أو النمط واحد ونصف ويوجد أيضاً سكري النضوج الذي يصيب المريض قبل بلوغه

سن الثلاثين وهو عبارة عن مجموعة من الاضطرابات الجينية الفردية مصحوبة بسوابق عائلية قوية في الإصابة بمرض النمط الثاني من السكري(2010).

### 1-1-1 سكري النمط الأول

يتصف النمط الأول من السكري بخسارة الخلايا بيتا المنتجة للأنسولين في خلايا لانغرهانس بالبنكرياس مما يؤدي إلى نقص الأنسولين. السبب الرئيسي لهذه الخسارة هو مناعة ذاتية تتميز بهجوم الخلايا التائية المناعية على خلايا بيتا المنتجة للأنسولين. ولا توجد وسيلة للوقاية من الإصابة بالنمط الأول من السكري الذي يمثل 10% من حالات مرضى السكري في أمريكا الشمالية وأوروبا، مع اختلاف التوزيع الجغرافي، ومعظم المصابين بالمرض كانوا إما بصحة جيدة أو ذوي أوزان مثالية عندما بدأت أعراض المرض بالظهور. وتكون استجابتهم لمفعول الأنسولين عادية (لا توجد مقاومة) خصوصاً في المراحل الأولى. يمكن للنمط الأول أن يصيب الأطفال أو البالغين ولكنه معروف تقليدياً بسكري الأطفال لأن معظم المصابين به من الأطفال.

ويُعالج النمط الأول بصورة أساسية - حتى أثناء المراحل الأولى - بحقن الأنسولين مع المراقبة المستمرة لمستويات غلوكوز الدم. ويمكن أن يصاب المريض الذي لا يتعاطى الأنسولين بالحمض الكيتوني السكري الذي يؤدي إلى الغيبوبة أو الوفاة. ويجب التأكيد على المريض بأن يضبط أسلوب حياته خصوصاً فيما يتعلق بالقوت وتمارين رياضية مع أن كل ذلك لا يمكنه أن يعوض خسارة الخلايا بيتا. وبعيداً عن الاستخدام التقليدي لحقن الأنسولين تحت الجلد، يمكن توصيل الأنسولين للدم عن طريق مضخة - يمكنها

تسريب الأنسولين على مدار اليوم وبمستويات معيَّنة - كما يمكن التحكم في الجرعات (مثل إعطاء جرعة كبيرة) - حسب الحاجة - في أوقات الوجبات.

ويستمر علاج النمط الأول من السكّري بلا نهاية. ولا يؤثر العلاج بصورة كبيرة على الأنشطة الحياتية للمريض إذا كان هناك تعود ووعي ورعاية سليمة وكذلك انتظام في أخذ الجرعات وقياس مستوى غلوكوز الدم. (van Belle et al., 2011)

جدول رقم (1) : النمط الأول من السكّري	
يؤدي إلى انخفاض واضح في الوزن	يصيب الأعمار فوق 30 عاماً بشكل عام
يؤدي إلى الحمض الكيتوني	اعراض متوسطة إلى شديدة
واسماته المناعية (IA-2،ICA،anti-GAD)	يسبب الهزال
ينخفض مستوى C-peptide الصيامي	سريع البدء

### 1-1-2 سكّري النمط الثاني

يتصف النمط الثاني من السكّري باختلافه عن النمط الأول من حيث وجود مقاومة مضادة لمفعول الأنسولين بالإضافة إلى قلة إفراز الأنسولين. ولا تستجيب مستقبلات الأنسولين الموجودة في الأغلفة الخلوية لمختلف أنسجة الجسم بصورة صحيحة للأنسولين. بالمراحل الأولى تكون مقاومة الأنسولين هي الشذوذ الطاعي في استجابة الأنسجة للأنسولين وتكون مصحوبة بارتفاع مستويات أنسولين في الدم. وفي هذه المرحلة يمكن تقليل مستوى غلوكوز الدم عن طريق وسائل وأدوية تزيد من فاعلية الأنسولين وتقلل إنتاج الغلوكوز من

الكبد .وكلما تطور المرض نقل كفاءة إفراز الأنسولين من البنكرياس وتصبح هناك حاجة لحقن الأنسولين(Biswas, 2015).

وتوجد العديد من النظريات التي تحاول تحديد سبب وآلية الإصابة بالنمط الثاني من السكري. ومن المعروف أن الكرش، أي الدهون التي تتركز حول الوسط على الأعضاء داخل البطن وليس الدهون تحت الجلد، تؤدي إلى مقاومة الأنسولين. وتنشط الدهون هرمونياً وتفرز مجموعة من الهرمونات التي تقلل من فاعلية الأنسولين. ويعاني من السمنة %55 من المرضى المصابين بالنمط الثاني من السكري. وتوجد عوامل أخرى مثل التقدم بالعمر، فحوالي 20% من المسنين يعانون من السكري في أمريكا الشمالية، وتاريخ العائلة، حيث يشيع النمط الثاني أكثر في الأفراد الذين لديهم أقارب عانوا منه سابقاً، وقد بدأ النمط الثاني بإصابة الأطفال والمراهقين باضطراد في العقد السابق وربما يرجع ذلك إلى انتشار سمنة الأطفال في بعض الأماكن في العالم (Ding et al., 2015).

ويمكن أن يستمر النمط الثاني بدون ملاحظة المريض لفترة طويلة بسبب ضعف ظهور الأعراض أو بسبب عدم وضوحها أو اعتبارها مجرد حالات فردية عابرة لا توحى بوجود مرض. وعادة لا يعاني المريض من الحمض الكيتوني. ولكن يمكن أن تنتج مضاعفات خطيرة من عدم ملاحظة المرض مثل القصور الكلوي الناتج عن اعتلال الكلى السكري أو مرض وعائي، مثل مرض في الشريان التاجي، أو مرض في العين ناتج عن اعتلال الشبكية السكري، أو فقد الإحساس بالألم بسبب اعتلال الأعصاب السكري، أو تلف كبد ناتج عن التهاب كبدي دهني لا كحولي، أي أن سببه ليس مشروبات كحولية، كما يحدث في العادة.

ويبدأ علاج النمط الثاني عادة عن طريق زيادة النشاط البدني وتقليل تناول النشويات وتقليل الوزن (Koga et al., 2015) ويمكن لهذه الإجراءات أن تستعيد فاعلية الأنسولين حتى لو كان فقد الوزن قليلاً (5 كيلوغرامات على سبيل المثال) خصوصاً لو كان من منطقة الكرش (Davis et Vetter et al., 2014), ويمكن في بعض الحالات التحكم في مستوى غلوكوز الدم بصورة جيدة بواسطة هذه الإجراءات فقط ولفترة طويلة ولكن ميل الجسم لمقاومة الأنسولين لا ينتهي ولذلك يجب الانتباه إلى مواصلة النشاط البدني وفقد الوزن والحفاظ على نظام غذائي مناسب للمرض. وتكون الخطوة التالية من العلاج عادة هي تناول الأقراص المخفضة للسكر. ويضعف إنتاج الأنسولين إلى حد ما في بداية النمط الثاني من السكري ولذلك يمكن تعاطي دواء عن طريق الفم يستعمل في العديد من الوصفات الطبية التي تحتوي على مجموعة من الأدوية لتحسين إنتاج الأنسولين (عائلة السلفونيل يوريا) أو لتنظيم الإفراز غير المناسب للغلوكوز من الكبد وإضعاف مقاومة الأنسولين إلى حد ما (الميتفورمين) أو لإضعاف مقاومة الأنسولين بصورة كبيرة (مثل الثيازوليدينونات). (Poole, 1986)

جدول رقم (2) مقارنة بين النمطين الأول والثاني من السكري (Alberti et al., 2004)

سكّري النمط الأول	سكّري النمط الثاني
حاد - له اعراض	بطيء - غالبا لاعرضي
فقدان للوزن بول عطاش	بدانة قصة عائلية عرقى
موجود غالبا	غائب غالباً
منخفض / غير موجود	طبيعي / مرتفع

الأضداد Antibodies	ICA ايجابي	ICA سلبي
	Anti GAD ايجابي	Anti GAD سلبي
	ICA 512 ايجابي	ICA 512 سلبي
المعالجة	غير معتمد على الانسولين	معتمد على الانسولين
يترافق مع امراض مناعة ذاتية	نعم	لا

### 1-1-3 الأنماط الأخرى من السكري

توجد العديد من المسببات النادرة لمرض السكري التي لا يمكن تصنيفها كنمط أول أو ثان أو سكري الحوامل. وتثير محاولات تصنيفها الكثير من الجدل. توجد بعض الحالات من السكري بسبب عدم استجابة مستقبلات الأنسولين على أنسجة الجسم، حتى لو كانت مستويات الأنسولين طبيعية، وهذا يجعل هذه الحالة مختلفة عن النمط الثاني، وهذا النمط نادر جداً.

كما أن الطفرات الجينية في الصبغة أو في الميتوكوندريا، يمكن أن تؤدي إلى تشوهات في وظيفة خلايا بيتا . ويُعتقد أنه قد تم تحديد السبب الجيني لتشوه مفعول الأنسولين .ويمكن لأي مرض يصيب البنكرياس أن يؤدي للسكري، على سبيل المثال، التهاب البنكرياس المزمن) أو التليف الخلوي (وكذلك الأمراض التي تصاحبها إفراز زائد لهرمونات مضادة للأنسولين والتي يمكن علاجها عندما تختفي الزيادة في هذا الهرمونات .

### 1-2 العلامات والأعراض

الأعراض المتعارف عليها تقليدياً لمرض السكري هي زيادة التبول وزيادة العطش وبالتالي زيادة تناول السوائل وزيادة الشهية لتناول الطعام . ويمكن لهذه الأعراض أن تتطور سريعاً، خلال أسابيع أو شهور، في النمط

الأول خصوصاً إذا كان المريض طفلاً. وعلى العكس من ذلك فإن تطور الأعراض في النمط الثاني أكثر ببطئاً وصعب الملاحظة بل ويمكن أن تكون غائبة تماماً. ويمكن أن يسبب النمط الأول فقداناً سريعاً للوزن ولكنه كبير، مع أنّ تناول المرضى للطعام يكون طبيعياً أو حتى زائداً، كما يمكنه أن يسبب خمولاً وتعاباً مستمراً. وتظهر كل هذه الأعراض ماعدا فقدان الوزن في مرضى النمط الثاني الذين لا يولون المرض الرعاية الكافية (Cooke DW, 2008).

وعندما يرتفع تركيز غلوكوز الدم أعلى من الحد الأقصى لقدرة الكلى، لا تكتمل إعادة امتصاص الغلوكوز في الأنابيب الملتف الداني ويبقى جزء من الغلوكوز في البول ويزيد الضغط الاسموزي للبول ويمنع إعادة امتصاص الماء بواسطة الكلية مما يؤدي إلى زيادة إنتاج البول وبالتالي فقدان سوائل الجسم. ويحل الماء الموجود في خلايا الجسم محل الماء المفقود من الدم إسموزياً وينتج عن ذلك جفاف وعطش.

ويسبب ارتفاع تركيز غلوكوز الدم لفترات طويلة إلى امتصاص الغلوكوز مما يؤدي إلى تغيرات في شكل العدسات في العين وينتج عنه تغيرات في الإبصار، ويشكو مرضى السكري عموماً من الرؤية المشوشة ويمكن تشخيصه عن طريقها. ويجب الافتراض دائماً أن المريض مصاب بالنمط الأول من السكري في حالات تغير الإبصار السريع بينما يكون النمط الثاني عادة متدرج في سرعته. ولكن يجب افتراض الإصابة به أيضاً (Battelino et al., 2015, Huang et al., 2015).

ويعاني مرضى السكري (عادة مرضى النمط الأول) من تحمض الدم الكيتوني، وهي حالة متدهورة نتيجة عدم انتظام التمثيل الغذائي تتميز بوجود رائحة الأسيتون في نفس المريض و سرعة وعمق التنفس و زيادة التبول و غثيان، استفراغ ومغص وكذلك تتميز بوجود حالة متغيرة من حالات فقدان الوعي أو الاستنارة مثل

العدوانية أو الجنون ويمكن أن تكون العكس، أي اضطراب وخمول. وعندما تكون الحالة شديدة، يتبعها غيبوبة تؤدي إلى الموت. ولذلك فإن تحمض الدم الكيتوني هو حالة طبية خطيرة تتطلب إرسال المريض للمستشفى (Rosival, 2015)

### 1-3 الجينات والسكري

تلعب الوراثة دوراً جزئياً في إصابة المريض بالنمطين الأول والثاني (Radder, 1979). ويُعتقد بأن النمط الأول من السكري تحفزه نوع ما من العدوى (فيروسية بالأساس) أو أنواع أخرى من المحفزات على نطاق ضيق مثل الضغط النفسي أو الإجهاد والتعرض للمؤثرات البيئية المحيطة، مثل التعرض لبعض المواد الكيميائية أو الأدوية. وتلعب بعض العناصر الجينية دوراً في استجابة الفرد لهذه المحفزات. وقد تمّ تتبع هذه العناصر الجينية فوجد أنها أنواع جينات متعلقة بتوجيه كريات الدم البيضاء لأيّ أصداد موجودة في الجسم، أي إنها جينات يعتمد عليها الجهاز المناعي لتحديد خلايا الجسم التي لا يجب مهاجمتها من الأجسام التي يجب مهاجمتها. وعلى الرغم من ذلك فإنّه و حتى بالنسبة لأولئك الذين ورثوا هذه القابلية للإصابة بالمرض يجب التعرض لمحفز من البيئة المحيطة للإصابة به. ويحمل قلة من الناس المصابين بالنمط الأول من السكري مورثة متحورة تسبب سكري النضوج الذي يصيب اليافعين (Hivert et al., 2014).

وتلعب الوراثة دوراً أكبر في الإصابة بالنمط الثاني من السكري خصوصاً أولئك الذين لديهم أقارب يعانون من الدرجة الأولى. ويزداد احتمال إصابتهم بالمرض بازدياد عدد الأقارب المصابين. فنسبة الإصابة به بين التوائم المتماثلة (من البويضة نفسها) تصل إلى 100%، وتصل إلى 25% لأولئك الذين لديهم تاريخ عائلي في الإصابة بالمرض (Condon et al., 2008).

وتلعب العديد من الحالات الوراثية دوراً كبيراً في الإصابة بالسكري مثل الحثل العضلي، رنح فريدريك، وكذلك متلازمة ولفرام، وهي اختلال صبغي مرتد يسبب ضمور الأعصاب تظهر أثناء مرحلة الطفولة وهي تتكون من البول الماسخ، البول السكري، ضمور العين والصمم (Manaviat et al., 2009).

## 4-1 التشخيص

يُشخص النمط الأول والعديد من حالات النمط الثاني من السكري بناء على الأعراض الأولية التي تظهر في بداية المرض مثل كثرة التبول والعطش الزائد وقد يصاحبها فقد للوزن، وتتطور هذه الأعراض عادة على مدار الأيام والأسابيع. ويعاني حوالي ربع الناس المرضى بالنمط الأول من السكري من تحمض الدم الكيتوني عندما يتم إدراك إصابتهم بالمرض. ويتم عادة تشخيص بقية أنماط السكري بطرق أخرى مثل الفحص الطبي الدوري، اكتشاف ارتفاع مستوى جلوكوز الدم أثناء إجراء أحد التحاليل؛ أو عن طريق وجود عرض ثانوي مثل تغيرات الرؤية أو التعب غير المبرر. ويتم عادة اكتشاف المرض عندما يعاني المريض من مشكله يسببها السكري بكثرة مثل السكتات القلبية أو اعتلال الكلى أو ببطء التئام الجروح أو تقيح القدم أو مشكلة معينة في العين أو إصابة فطرية معينة أو ولادة طفل ضخم الجثة أو يعاني من انخفاض مستوى سكر الدم.

ويتميز السكري بارتفاع منقطع أو مستمر في جلوكوز الدم ويمكن الاستدلال عليه بواحد من القيم التالية :

- قياس مستوى جلوكوز الدم أثناء الصيام 110 مليغرام / ديسيلتر (7 مليمول / لتر) أو أعلى.
- قياس مستوى جلوكوز الدم 200 مليغرام / ديسيلتر (11.1 مليمول / لتر) أو أعلى وذلك بعد ساعتين من تناول 75 جرام جلوكوز كما يُتبع في اختبار تحمل الجلوكوز.
- قياس عشوائي لمستوى جلوكوز الدم 200 مليغرام / ديسيلتر (11.1 مليمول / لتر) أو أعلى.

• عندما تكون النتيجة إيجابية، ولكن في غياب أعراض السكرى، يجب تأكيدها بطريقة أخرى من الطرق السابق ذكرها (قياس صائم، مفطر أو عشوائي). ويفضل معظم الأطباء قياس مستوى الغلوكوز أثناء الصيام بسبب سهولة القياس وتوفير الوقت (ساعتان) لإجراء اختبار تحمل الغلوكوز إذ إنه يجب الانتظار لمدة ساعتين بين تناول الغلوكوز وقياس مستواه في الدم وطبقاً للتعريف الحالي فإن قياسين لمستوى غلوكوز الدم عند الصيام نتيجهما أعلى من 126 مليغرام / ديسيلتر (7 مليمول / لتر)، يتم اعتبارهما دلالة على الإصابة بالسكرى.

• يُعتبر المرضى الذين يتراوح مستوى غلوكوز دمهم أثناء الصيام ما بين 110 و126 مليغرام / ديسيلتر (6.1 و7 مليمول / لتر) بأن لديهم اضطراب في مستوى غلوكوز الدم أثناء الصيام. أما عندما يكون المستوى 140 مليغرام / ديسيلتر (7.8 مليمول / لتر) أو أعلى بعد ساعتين من تعاطي 75 غرام غلوكوز بالفم فيكون هناك ضعف تحمل للغلوكوز. ويُعتبر ضعف تحمل الغلوكوز خصوصاً بأنه يزيد من احتمال تطوره إلى سكرى شديد مع مرض قلبي وعائي (مرض في الجهاز الدوري).

• مع أنه لا يستخدم للتشخيص، إلا أن المستوى المرتفع للغلوكوز الذي يرتبط بهيموغلوبين الدم بصورة لارجعية (يُسمى الهيموغلوبين الغليكوزيلاتى) بنسبة 6% أو أعلى، بحسب المعيار المتخذ به في الولايات المتحدة الذي تمت مراجعته عام 2003، يُعتبر غير طبيعي بالنسبة لمعظم معامل التحاليل. ويُستخدم هذا القياس أساساً كاختبار لمدى فاعلية العلاج يعكس متوسط غلوكوز الدم على مدار التسعين يوماً السابقة تقريباً. ولكن يمكن لبعض الأطباء أن يطلبوا إجراء هذا الاختبار وقت التشخيص لتتبع التغيرات التي حدثت من قبل. والنسبة الموصى بها للهيموغلوبين الغليكوزيلاتى

لمرضى السكرى هي أقل من 7% والتي تُعتبر دلالة على التحكم الجيد في غلوكوز الدم ولكن يوصي بعض الأطباء بنسب أكثر صرامة، كأقل من 6.5%. ويقل احتمال حدوث مضاعفات مثل اعتلال الشبكية أو اعتلال الكلى السكرى عند المرضى بالسكرى الذين يحافظون على مستوى الهيموغلوبين الغليكوزيلاتي بين 6.5 و 7% (Kalluri and Zeisberg, 2006) .

## 1-5 المظاهر الفموية للسكرى

تلعب الصحة الفموية دوراً رئيسياً في الحالة الصحية العامة ، وتقي الصحة الفموية المثالية المجتمع من العديد من الأمراض ليس فقط على مستوى الحفرة الفموية بل على المستوى الجهازي للجسم ، ومن الشائع ان مرضى الداء السكرى يعانون من صحة فموية أسوأ من غيرهم .

تعدّ الاختلالات الناجمة عن السكرى غير المضبوط متعددة و مخربة ، وتشمل هذه الاختلالات جفاف الفم و زيادة قابلية الإصابة بالانتانات البكتيرية والفيروسية والفطرية اضافة إلى زيادة احتمال الإصابة بالنخور السنية وبطء شفاء الجروح والتهاب اللثة وآفات الانسجة الداعمة والخراجات حول الذروية واعتلال حاسة الذوق اضافة إلى متلازمة الفم الحارق وضخامة الغدة النكفية والحزاز المنبسط .

تعتبر المبيضات البيض الفموية من الإنتانات الإنتهازية الشائعة على مستوى الحفرة الفموية وهي تتجم عن فرط نمو فطور المبيضات البيض ويختلف معدل حدوث هذه الآفة حسب العمر وعوامل مؤهبة محددة مثل سوء وظيفة الغدد اللعابية والأدوية والتعويضات والتدخين ومتلازمة كوشينغ والخبائث وحالات الكبت المناعي بالاضافة إلى السكرى ، توجد المبيضات في النمط 1 من السكرى بشكل أكبر من وجودها في النمط 2 .

## داء السكري و اعتلال وظائف الغدد اللعابية :

وجد (Sandberg GE, 2000) درجة عالية من جفاف الفم لدى المرضى المصابين بالنمط 2 كما لوحظ حالة من جفاف الفم لدى مرضى السكري غير المشخصين مع دلائل تشير إلى نقص في وظائف الغدد اللعابية ، أشار (Gosiewski et al., 2014) إلى أنّ وجود الخيوط الكاذبة للمبيضات والمظاهر الفموية للنسج الفموية المصابة بها كالتهاب اللسان المعيني والتهاب الفم الناجم عن التعويضات والتهاب الفم الزاوي كانت اكثر انتشاراً في النمط 1 من السكري .

اظهر (Jawed et al., 2011) اختلافاً واضحاً في افراز اللعاب بين مرضى السكري والأشخاص الطبيعيين وأشار إلى أن نقص الإفراز اللعابي قد وجد في 30.8 % من الحالات . ومن المعروف بأنّ نقص الإفراز اللعابي يعد من الأعراض الشائعة للسكري و قد تمّ ربطه مع سوء وظيفة برانشيم الغدد اللعابية الكبيرة بخر الفم : السبب الرئيسي هو التحلل البكتيري وتشكل مركبات الكبريت الطيارة، 90% من حالات بخر الفم تتجم عن أسباب فموية موضعية و 10% الباقية ناجمة عن أسباب جهازية مثل الفشل الكبدي والكلوي والسرطانات اضافة إلى السكري .

آفات الأنسجة الداعمة : انتانات جرثومية وآفات تؤثر على الأنسجة الداعمة للسن وقد تؤدي إلى تخریبها ، أشير إلى أنّ هذه الآفات تعدّ من الاختلاطات على المستوى الوعائي المجهرى للسكري (CA, 2005) ، وهناك علاقة مزدوجة بين السكري و أمراض الأنسجة الداعمة و يمكن أن تحرض الإفراز المزمن للوسائط

الخلوية قبيل الالتهابية التي لها تأثير مؤذٍ على الأنسجة الداعمة. وقد أُشير إلى أن مرضى السكري يملكون صحة لثوية أقل و مشعر لويحة أعلى من غير السكريين.

## 1-6 التنشؤ الوعائي و السكري :

يعرف التنشؤ الوعائي بأنه : عملية استحداث أوعية دموية جديدة من أوعية موجودة مسبقاً تقدم تدفقاً دموياً كافياً و اكسجيناً للأنسجة النامية . تعد الخلايا البطانية الخلايا الرئيسية المشاركة في هذه العملية (, Rafiee et al., 2004Elbjeirami and West, 2006).

يحدث التنشؤ الوعائي فيزيولوجياً في حالات مثل الحمل والتطور وشفاء الجروح والطمث ، أما اضطرابات التنشؤ فتشارك في العديد من الأمراض مثل التسرطن والأمراض القلبية الوعائية والإختلالات الناجمة عن السكري و الامراض العينية و الالتهابات المزمنة (Hawinkels et al., 2008Wang et al., 2000). تأخذ الاعتلالات الوعائية لدى مرضى السكري أحد الأشكال التالية : اضطرابات في بنية الأوعية الدموية او تنشؤ وعائي شديد كما في القرنية و النفرونات الكلوية أو كبح للتنشؤ الوعائي كما في حالات رفض الطعوم لدى مرضى السكري (Kim et al., 2013) (Oviedo–Socarras et al., 2014).

يتألف التنشؤ الوعائي من خطوات متتالية : أولها انحلال بروتينات قالب خارج الخلوي عبر الأنظمة الحالة للبروتين ، ثم هجرة الخلايا البطانية باتجاه العامل المحرض ثم تكاثر هذه الخلايا لتقدم عدداً كافياً من الخلايا التي تعطي الأنبوب ثلاثي الابعاد ثم تتضج وتعطي اللمعة . يعتمد التنشؤ الوعائي الطبيعي على التوازن المعقد بين العوامل المنشئة للأوعية مثل  $TGF-\beta$ ,  $FGF2$ ,  $VEGF$  و العوامل المضادة للتنشؤ الوعائي مثل thrombospodin, endostatin, angiostatin (Vailhe and Tranqui, Zheng et al., 2001).

(1996, Matsumoto et al., 2014)

تعد الاختلاطات الوعائية المجهرية في السكري من الأسباب الرئيسية لعدد من الأمراض والوفاة المبكرة لدى المرضى المصابين به، ويعد عامل التنشؤ الوعائي البطاني VEGF وسيطاً خلوياً متعدد الوظائف يلعب دوراً رئيسياً في احداث الامراضيات الناجمة عن الاختلاطات الوعائية المجهرية في السكري ، وقد لوحظ سوء وظيفة الخلايا البطانية و زيادة نفوذية الأوعية الدموية عند مرضى السكري وذلك في شبكية العين والأنابيب البولية في الكلى . يعد VEGF غليكوبروتيناً مثنوياً مصان يعزز التنشؤ الوعائي ، كما أنه وسيط كامن للنفوذية الوعائية . ينظّم هذا العامل تكاثر الخلايا البطانية في عدة أنماط من الأنسجة بما فيها الكبد الشعرية ، وتؤثر التغيرات المورثية في مورثة VEGF على سويات تعبيرية هذا العامل .

## 2- عامل النمو الوعائي البطاني

تتوضع مورثة VEGF على الصبغي 6p12.3 و تحتوي 8 اكسونات مفصولة ب 7 انترونات ترمز هذه المورثة ستة صيغ مختلفة هي VEGF-121، VEGF-145، VEGF-165 ، VEGF-183 ، VEGF-189، VEGF-206 and والتي تتسمى وفقا لعدد الحموض الأمينية في الحلقة الببتيدية . بروتين VEGF الأساسي هو عبارة عن غليكوبروتين مثنوي يرتبط بالهيبارين وزنه الجزيئي 45kDa (Ferrara N, 2003)

## 2-1 التنشؤ الوعائي وأهمية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF:

يحدث تشكل الأوعية الجديدة Neovascularization باليتين : تكوّن الأوعية Vasculogenesis وتنشؤها Angiogenesis. يعرف تكوّن الأوعية الجنيني بأنه العملية التي يحدث بها تشكل أوعية دموية من خلايا الأرومة الوعائية hemangioblasts التي تتمايز إلى خلايا دم وخلايا بطانية ناضجة (Dvorak, 2005).

تتطور الأوعية الدموية المبكرة عند الجنين بتجمع خلايا الأرومة الوعائية في شبكة بدئية من الأنايب البطانية البسيطة (Coultas et al., 2005). وحالما تتقلب الأوعية البدئية إلى النظام الناقل الوظيفي، تخضع لتكاثر وتقهقر regression موضّع، إضافة إلى التفرع والهجرة. و بالمقابل فإنّ تنشؤ الأوعية Angiogenesis هو عملية تشكل أوعية جديدة من الشبكة الوعائية الموجودة مسبقاً بواسطة انتشار sprouting الشعيرات الدموية. تنقسم الخلايا البطانية-أثناء هذه العملية- وتساوم في تشكيل أوعية جديدة.

تعد إشارات عامل النمو الوعائي البطاني VEGF ضرورية من أجل تنفيذ تكون الأوعية وتوالد الأوعية. تتفق الكثير من المشاهدات المترافقة مع نقص التروية الدموية ischemia وتشكل الأورام مع مبدأ تكون الأوعية الدموية vasculogenesis كما يحدث أيضاً أثناء تطور الأوعية ما بعد الولادة (Aghi and Chiocca, 2005). يعد Asahara وزملاؤه أول من وصف وجود الخلايا سليفة الخلايا البطانية في دم الإنسان البالغ والتي تتمايز إلى خلايا بطانية (Asahara et al., 1997). تبقى هذه الخلايا السليفة في نقي العظام ولكن يمكن أن تصبح متحركة في الدوران بتأثير السيتوكينات وإشارات عوامل النمو الوعائية (Zamaretti and Zisch, 2005). أثناء تكون الأوعية عند البالغ تقوم الخلايا البطانية السليفة المتحركة بتحفيز تشكل الأوعية بواسطة الاندماج مع الأوعية وتزويدها بعوامل النمو. تتمايز الخلايا السليفة في مواقع الاحتشاء ونقص التروية ورض الأنسجة حيث تتمايز إلى خلايا بطانية ناضجة وتشارك مع خلايا أخرى لتشكيل أوعية جديدة. تقترح هذه الموجودات أنّ تكون الأوعية الدموية وتنشؤها قد يتكون من آليات تكاملية من أجل تشكل الأوعية الدموية الجديدة ما بعد الولادة. على أي حال لا تدعم كل الدراسات مبدأ تشكل الأوعية عند البالغ (Ziegelhoeffer et al., 2004)، ولا بد من دراسات إضافية لتفنيذ كل التناقضات.

## 2-2 منشطات ومثبطات التنشؤ الوعائي Activators and inhibitors of angiogenesis :

يخضع التنشؤ الوعائي والذي ينظم بواسطة منشطات ومثبطات داخلية المنشأ لضبط شديد ( Hanahan and Folkman, 1996 ) . إذ يوجد حوالي 30 عاملاً داخلي المنشأ معروفاً يساهم في التنشؤ الوعائي. تلعب ثلاثة عائلات من مستقبلات التيروزين كيناز دوراً هاماً في التولد والتشكل الوعائي ( Eklund and Olsen, 2006). يعد عامل النمو الوعائي البطاني VEGF أكثرها دراسةً وهو جزء من دراستنا الحالية. يقوم الأنجيوبويتين angiopoietin في التحكم بنضج الأوعية، بينما تلعب عوامل نمو مصورات الليف الأساسية والحمضية دوراً هاماً مدروساً في التنشؤ الوعائي ( Relf et al., 1997 ) .

## 2-3 مراجعة تاريخية لاكتشاف عامل النمو الوعائي البطاني :

في عام 1983 وصف Senger بروتيناً في ورم عند الخنزير الغيني قادر على تحريض التسرب الوعائي في الجلد، والذي سميّ بعامل النفوذية الوعائية الورمي ( VPF ) (Senger et al., 1983). وافترض أنّ هذا العامل يمكن أن يكون وسيطاً للنفوذية العالية في الأوعية الدموية في الورم. ولأنّ هذا العامل لم يعزل أو ينسخ، فإنّه بقي غير معروف على المستوى الجزيئي في ذلك الوقت. ثمّ لاحقاً حدّد Senger نفسه تسلسل الحموض الأمينية في 1990 (Senger et al., 1990). لاحقاً تابع Connolly عمل Senger و قام بعزل ونسخ VPF الخاص بالإنسان، والذي أطلق عليه فيما بعد عامل النمو الوعائي البطاني VEGF (Connolly et al., 1989). إنّ الموجودات القائلة بأنّ عامل النمو الوعائي البطاني هو عامل قوي قابل للانتشار وخاص بالخلايا البطانية الوعائية أدت إلى افتراض أنّ هذا الجزيء قد يلعب دوراً في تنظيم النمو الوظيفي والمرضي للأوعية الدموية (Ferrara et al., 1991).

### 3 - الغدد اللعابية Salivary Glands:

#### 3-1 أنواع الغدد اللعابية:

تصنّف الغدد اللعابية حسب حجمها وكميّة إفرازها إلى غدد لعابية كبيرة وصغيرة ويتكون كلا النوعين من الغدد من نفس أنواع الخلايا نفسها (مصلية ، مخاطية أو كليهما )

يوجد في جسم الإنسان ثلاثة أزواج من الغدد اللعابية الكبيرة Major Salivary Glands وهي النكفة Parotid وتحت الفك Submandibular وتحت اللسان Sublingual ، وتتوضع هذه الغدد خارج الحفرة الفموية وتتصل بها من خلال أقينتها المفرغة.

إضافة إلى غدد لعابية صغيرة Minor Salivary Glands تتوضع في مناطق مختلفة من الحفرة الفموية في الطبقة تحت المخاطية Submucosal Layer ، ولهذه الغدد الصغيرة أقينية قصيرة تفتح مباشرة على سطح المخاطية. (Nanci, 2013)(Hellquist and Skalova, 2014)

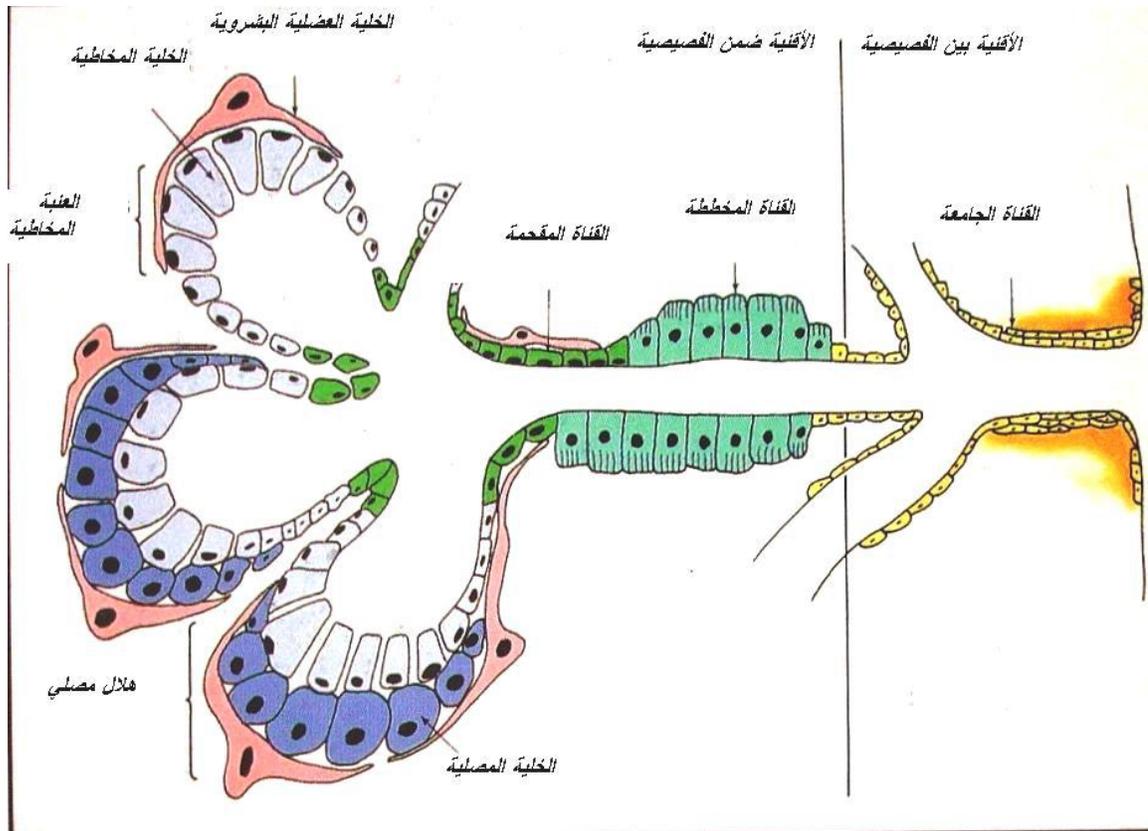
#### 3-2 لمحة نسيجية عامة عن الغدد اللعابية Histology :

تتألف الغدة اللعابية من عنبات أو وحدات نهائية مفرزة أنبوبية أو كروية spherical or tubular secretory endpieces تتصل بسلاسل من الأقينية المتفرعة Branched ducts مشابهة بذلك عنقود العنب وتفرعاته حيث تشبه الفروع بالأقينية وحبّات العنب بالعنبات.(Beale and Madani, 2006)

تتمادى لمعة العنبات مع الجزء الأولي من الجهاز القنبيوي المسمى بالأقينية المقحمة Intercalated ducts التي تتجمّع لتشكل أقينية أكبر تسمى الأقينية المخططة Striated ducts والتي تشكل معظم الجهاز

القبوي ضمن الفصيبي Intralobule وتلعب دوراً رئيسياً في تعديل اللعاب الأولي المفرز من العنبات، وتتجمع هذه الأقبية بدورها لتشكل الأقبية المفرغة بين الفصيبي Interlobule والتي تتحد بدورها أيضاً لتشكل الأقبية المفرغة بين الفصيبي Interlobe، وتنتهي الأخيرة بالقناة المفرغة الرئيسية للغدة والتي تفتح على الحفرة الفموية، الشكل(1). (Berkovitz et al., 2002)

وتوجد في بعض الغدد قننات بين خلوية Intercellular Canaliculi وهي عبارة عن امتدادات صغيرة من اللعنة توجد بين الخلايا المتجاورة ومن المحتمل أنّ هذه القننات تصل إلى قاعدة الخلايا المفرزة وتعمل على زيادة حجم السطح الإفرازي للخلايا. (Nanci, 2013)



الشكل(1)صورة ترسيمية توضح الوحدة الوظيفية في الغدة اللعابية (Berkovitz et al., 2002)

### 3-2-1 الخلايا المفرزة Secretary Cells:

يوجد نوعان رئيسيان من الخلايا المفرزة في الغدد اللعابية وهما: الخلايا المخاطية Mucous cells والخلايا المصلية Serous cells، الشكل (2). وتوجد بينهما فروقات في البنية والمظهر النسيجي وفي نوع المفرزات الناتجة عنها. (Nanci, 2013) (Hellquist and Skalova, 2014)

### 3-2-1-1 الخلايا المصلية Serous cells:

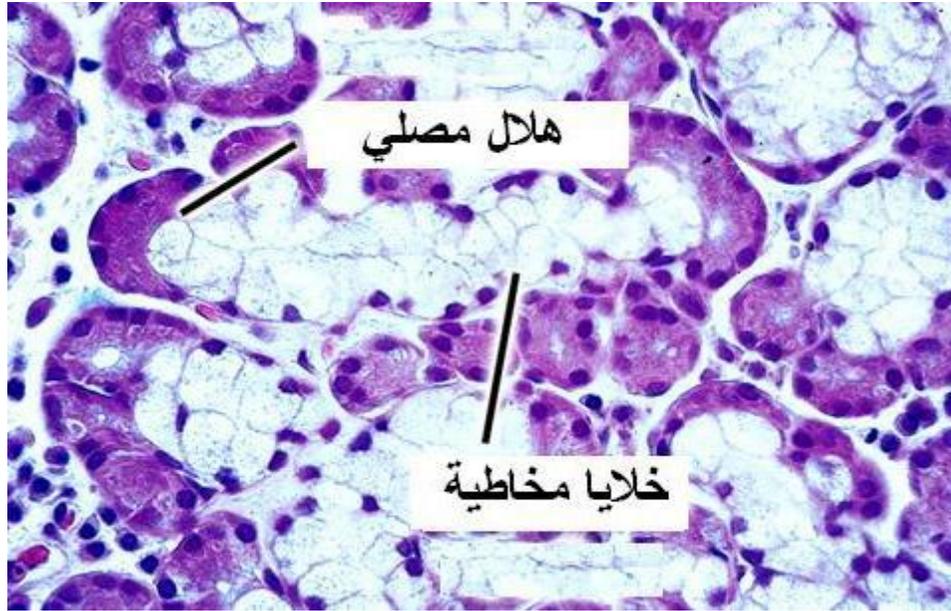
هي خلايا ذات شكل هرمي تجاوز قاعدتها العريضة للحممة الضامة بينما تطلّ قمته الضيقة على اللمعة حيث تجتمع كل 8-12 خلية حول لمعة لتشكل العنبات المصلية كروية الشكل وللمعة امتدادات أصبعية ضيقة تمتد بين الخلايا المتجاورة لزيادة السطح الإفرازي تسمى Intercellular canaliculi، تتوضع أنوية الخلايا المصلية في الجزء القاعدي من الخلية أما الحبيبات الإفرازية فتوجد في القسم العلوي من هيولى الخلية حيث يفرز المصل من هذه الخلايا. (Nanci, 2013)

### 3-2-1-2 الخلايا المخاطية Mucous cells:

تأخذ العنبات المفرزة المخاطية الشكل الأنبوبي Tubular وتترافق في الغدد اللعابية الكبيرة وبعض الغدد اللعابية الصغيرة مع خلايا مصلية على شكل هلال Demilune يحيط بالخلايا المخاطية عند نهاية الأنبوب، وتأخذ هذه الوحدات الأنبوبية بالمقطع العرضي شكل دائري حيث تظهر الخلايا المخاطية محيطة بلمعة مركزية مشكّلة عنبة حجمها أكبر من حجم العنبة المصلية.

وأهم ما يميز الخلايا المخاطية هو تجمع كميات كبيرة من المخاط في القسم العلوي من هيولها إذ تضغط على النواة والشبكة الهيولية باتجاه قاعدة الخلية وتظهر هذه المفرزات عديمة اللون في التلوين التقليدي،

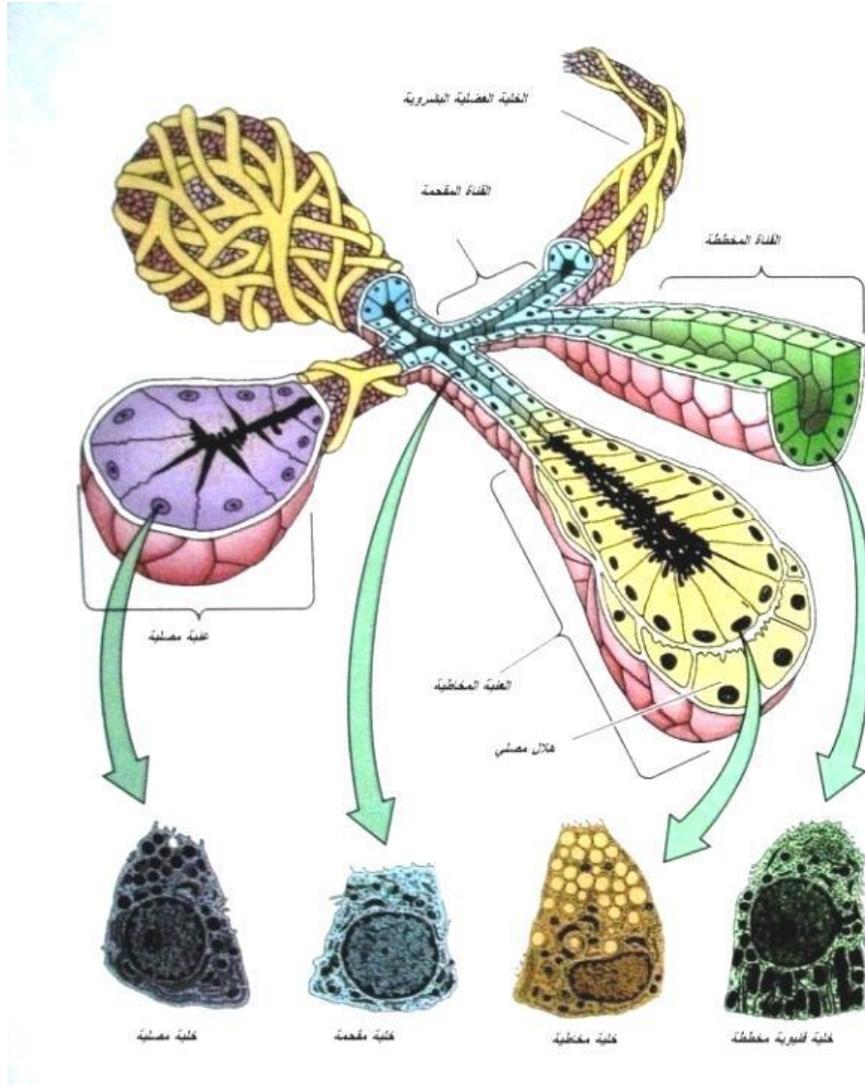
وتتميّز هذه الخلايا بجهاز كولجي ضخم يتوضّع قاعدياً بالنسبة للحبيبات الإفرازية ولا تحتوي الخلايا المخاطيّة على قنّيات بين خلوية باستثناء الخلايا المحاطة بالهلال المصلي. (Nanci, 2013)



الشكل(2) صورة نسيجية تبين الخلايا المخاطيّة والمصليّة في الغدّة تحت الفك (Nanci, 2013)

### 3-2-2 الجهاز القنوي Ductal System:

إنّ الأفتنية هي شبكة من الأنابيب يزداد قطرها بدءاً من العنبات المفرزة وانتهاءً بالحفرة الفمويّة وهناك ثلاثة أنواع من الأفتنية: الأفتنية المخصوصة Intercalated duct والمخطّطة Striated duct والمفرغة Excretory duct، الشكل (3). (Nanci, 2013)



الشكل (3) أنواع و أشكال الخلايا المكونة للغدد اللعابية

### 3-2-3 الخلية العضلية البشرية Myoepithelial cell:

هي خلية تترافق مع الأجزاء المفرزة والأقنية المخصصة في الغدد اللعابية تتوضع بين الصفيحة القاعدية وخلايا العنبات أو الأقنية وتتصل بها عن طريق جسيمات الوصل وتمتلك الخلايا الموجودة حول العنبات شكلاً نجمياً إذ تمتد تفرعات كثيرة من جسم الخلية لتحيط وتعانق الجزء المفرز وتمتلئ هذه التفرعات بليبفات الأكتين والميوزين ويحتوي الغشاء الخلوي على فجوات كثيرة يعتقد أن لها دور في بدء التقلص ويوجد العديد

من المتعضيات الخلوية في الهيولى حول النواة، أما الخلايا حول الأقنية المخصوصة فإنها أكثر مغزلية وأقلّ تفرعاً وتمتد متطاوله مع القناة.

ويعتقد أنّ التقلص يؤمن دعماً للأجزاء المفرزة خلال إفراز اللعاب ويساعد الخلايا في إطراح اللعاب الأولي من الجزء المفرز إلى الجهاز القنيوي، وربما تعمل الخلايا المحيطة بالأقنية المخصوصة على تقصيرها وتوسيعها لتؤمن انفتاحها. إلا أنّ هناك أبحاث متعددة تبيّن أنّ لهذه الخلية وظائف أخرى أهم من التقلص إذ تلعب هذه الخلية دوراً هاماً أثناء التطور الجنيني للغدة اللعابية يساهم في إعطاء الغدة شكلها المتفرع Branching morphogenesis، كما تعزّز تمايز الخلايا البشرية وتحافظ على استقطابها ولذا فهي تحافظ على الهندسة النسيجية للعبات. (Nanci, 2013) (Hellquist and Skalova, 2014) (FM, 2010)

### 3-2-4 النسيج الضام Connective Tissue:

يتألف النسيج الضام من المحفظة التي تحيط بالغدة اللعابية من الخارج وتفصلها عن النسيج المجاورة وتمتد من هذه المحفظة حواجز ضامة تقسم الغدة إلى فصوص وفصيصات، تحتوي هذه الحواجز على الأعصاب والأوعية الدموية التي تغذي البرانشيم إضافة إلى الأقنية المفرغة. (Nanci, 2013)

### 3-3 لمحة تشريحية ونسجية لكلّ غدة لعابية:

#### 3-3-1 الغدة النكفية Parotid Gland:

- هي الغدة الأكبر بين الغدد اللعابية وتعطي 25% من مجمل اللعاب فقط.
- تتألف من جزئين سطحي تحت الجلد وعميق خلف رآد الفك السفلي تتوضع في الناحية الجانبية للوجه أمام الأذن وهناك جزء ثالث (لاحق) يظهر عند 10% من البشر على مسار قناة الغدة عند العظم الوجني.
- تزن الغدة حوالي 14-28غ وتحاط بمحفظة ليفية ضامة كما تمتد قنواتها (قناة ستنسون Stensen s duct) على السطح الخارجي للعضلة الماضغة لتلتف عند حافتها الأمامية مارة من العضلة المبوقة وتفتح على التجويف الفموي في حليلة مقابل الرحي الثانية العلوية.
- مفرز هذه الغدة مصلي صرف ويحتوي القليل من المخاط عند حديثي الولادة حيث تلاحظ العنبات الغدية المصلية فقط في بنيتها النسيجية، وغالبا ما نشاهد النسيج الشحمي في الغدة.
- وهي المسؤولة عن الحصيل اللعابي الأعلى أثناء تناول الطعام. (Nanci, 2013) (Hellquist and Skalova, 2014)

#### 3-3-2 الغدة تحت الفك السفلي Submandibular Gland:

- تتوضع في القسم الخلفي من أرضية الفم على السطح الأنسي للفك السفلي وتلتف خلف الحافة الخلفية للعضلة الضرسية اللامية.

- وتكون بحجم متوسط وتعطى 60% من اللعاب تزن حوالي 10-15 غ.
- تعطى مزيجاً من الإفراز المصلي المخاطي غالبية مصلي أي أنّ مفرزها مختلط 80% مصلي و20% مخاطي.
- محاطة بمحفظة لكنها سهلة الانفصال عن الغدة.
- تمر قناتها المفرغة والمسماة بقناة وارتون Whartons duct أمامياً على الضرسية اللامية وتفتح على حليلة داخل الفم على جانبي لجام اللسان.
- وهي المسؤولة عن الحصيل اللعابي الأعلى اليومي وخارج أوقات تناول الطعام. (Nanci, 2013)  
(Hellquist and Skalova, 2014)

### 3-3-3 الغدة تحت اللسان Sublingual Gland:

- هي الغدة الأصغر بين الغدد اللعابية الرئيسية تزن حوالي 2 غ وتساهم بـ 5% من اللعاب، إفرازها مخاطي صافي تقريباً.
- تتوضع في القسم الأمامي من أرضية الفم بين الغشاء المخاطي والضرسية اللامية.
- وتصبّ مفرزات الغدة في الحفرة الفموية من خلال سلسلة من القنوات الصغيرة (قنوات رفينوس (Ducts of Rivinus) من 8\_10 أقنية مفتوحة على طول الطية تحت اللسانية وغالباً من خلال قناة أكبر تسمى قناة بارتولين Bartholins duct التي تفتح مع قناة الغدة تحت الفك في الميزاب تحت اللساني. (Hellquist and Skalova, 2014)(Nanci, 2013).

### 3-3-4 الغدد اللعابية الثانوية Minor Salivary Glands :

• يقدر عددها بـ 600\_1000 توجد بشكل مجموعات منفصلة من النسيج المفرزة تحت الغشاء المخاطي متوزعة في معظم أنسجة التجويف الفموي عدا:1- اللثة الملتصقة 2- الحنك الصلب (الثالث الأمامي)، تفرز 10% من اللعاب.

• وهي تصنف حسب موقعها إلى: شفوية Labial وخدية Buccal ولسانية Lingual وحنكية لسانية Glossopalatine وخلف رحوية Retromolar.

• كما تصنف إلى مخاطية ومصليّة ومختلطة حسب إفرازها، تعطي كمية مشابهة للغدة تحت اللسانية من اللعاب، أغلبها من النوع المخاطي مع بعض استثناءات كغدد فون ايبنر Von Ebners Glands في اللسان فإنها مصليّة وتفتح على الغؤورات حول الحليمات الكأسية. (Nanci, 2013) (Hellquist and Skalova, 2014)

### 3-4 البنية التشريحية للغدد اللعابية عند الأرانب:

يوجد عند الأرانب أربعة أزواج من الغدد اللعابية: النكفية وتحت الفك وتحت اللسان والوجنية (شكل رقم 10) تقع الغدة النكفية وهي الأكبر إلى الأمام و الأسفل من قاعدة الأذن بين الجلد والعضلة الماضغة حيث تكون مغروسة في النسيج الشحمي تحت الجلد في المنطقة الوحشية للعنق وتمتد قنواتها المفرغة على طول السطح الجانبي للعضلة الماضغة بالقرب من تفرعات العصب الوجهي وتفتح في جوف الفم مقابل الرحي العلوية

الأخيرة، إنّ الحجم الكبير للغدة النكفية وإمكانية الوصول لقناتها المفرغة يجعلها نموذجاً جيداً وشائع الاستخدام في الأبحاث العلمية.

الغدة تحت الفك لها شكل بيضوي متمحظة وتقع عند زاوية الفك السفلي.

الغدة تحت اللسان صغيرة عند الأرنب. الغدة اللعابية الوجيهة غير موجودة عند العديد من الحيوانات الأخرى وهي غير موجودة عند البشر وتمتد تحت الغدة الدمعية مباشرة في الزاوية الأمامية البطنية للحجاج. (Suckow et al., 2012)

**نسيجياً:** تظهر الغدة النكفية مجهرياً عند الأرناب بنية فصيصية تفصل بينها حجبا ضامة وتتألف بشكل أساسي من عنبات مصليّة صرفة ذات لمعة ضيقة ومبطّنة بخلايا هرمية الشكل لها نواة مدورة قاعدية التوضع، وتظهر الغدة تحت الفك محاطة بمحفظة ضامة كثيفة ترسل حجبا تقسمها إلى فصيصات متعددة الأشكال والحجم ولا يشاهد النسيج الشحمي الذي يعتبر مظهراً مميزاً للنكفة، تتألف الفصيصات من عنبات مختلطة مصليّة ومخاطيّة ونادراً ما يشاهد عنبات مخاطيّة محاطة بأهلة مصليّة، أما الغدة تحت الفك فتتألف من عنبات مختلطة تغلب عليها العنبات المخاطيّة بشكل أساسي مع قليل من الأهلة المصليّة. (AL-SAFFAR and SIMAWY, 2014)

يوجد نوع من الأقنية موجود فقط عند الأرناب في الغدة الوجيهة وبعض القوارض الأخرى وغير موجود عند البشر يدعى يدعى الأقنية الحبيبيّة granular ducts. (Amano et al., 2012a) (Gargiulo et al., 1996).

### 3-5 Extracellular Matrix of Connective Tissue القالب خارج الخلوي للنسيج الضام

تعدّ الأنواع المختلفة للنسيج الضام مسؤولة عن تأمين شكل الجسم والمحافظة عليه. ومن الناحية الوظيفية الميكانيكية يؤمّن النسيج الضام القالب الذي يربط الخلايا والأعضاء ويعطي الدّعم للجسم.

**بنويًا:** يشكّل النسيج الضام من ثلاثة مكونات: الخلايا Cells والألياف Fibers والمادة الأساسية Ground Substance، وبشكل غير مشابه للنسيج البشري والعضلي والعصبي والتي تتألف بشكل أساسي من الخلايا فإن المكوّن الأساسي للنسيج الضام هو القالب خارج الخلوي Extracellular matrix بمكوّنه الألياف البروتينية المختلفة Protein Fibers والمادة الأساسية. (Mescher, 2013)

### 3-6 أهم مكونات القالب خارج الخلوي Extracellular Matrix Components:

تعدّ الخلايا المصورة للليف Fibroblasts هي الأشيع في النسيج الضام و تكون مسؤولة عن تركيب مكوّنات القالب خارج الخلوي حيث تركّب الخلايا المصورة للليف الكولاجين والمرنين والجليكوأزمينوغلليكانات والبروتينات السكرية المتعددة اللصوقة.

يلاحظ في فعالية هذه الخلايا مرحلتين مرحلة نشاط و مرحلة هدوء. حيث يتميّز شكل الخلايا التي تمارس نشاطاً تركيبياً بوضوح عن الخلايا الساكنة والتي تكون مبعثرة ضمن القالب الذي رُكّب للتو. ( Mescher, 2013)

يتألف القالب خارج الخلوي من ألياف بروتينية مختلفة ( غرائية، شبكية، ومرنة ) و مادة أساسية.

الألياف Fibers: تتألف بشكل أساسي من الكولاجين، تؤلف الأوتار والصفاق ومحفظات الأعضاء، والأغشية التي تضمّ الجهاز العصبي المركزي (أغشية الدماغ). تؤلف أيضاً الحواجز والجدران داخل العديد من الأعضاء، مشكّلة المكون الأكثر مقاومة للحمة الضامة Stroma أو النسيج الداعم للأعضاء.

المادة الأساسية Ground Substance: هي معقد لزج محب للماء بشدة يتألف من جزيئات شاردية كبيرة (غليكوزأمينوغليكانات وسكّريات بروتينية) وبروتينات سكّرية متعدّدة لصوفة (اللامينين والفيبرينوكتين وأخرى)، وتمنح القوة والصلابة للقلب بواسطة الارتباط بمستقبلات بروتينية (Integrins) على سطح الخلايا وبالمكونات الأخرى للقلب. إضافةً إلى وظيفتها البنوية، فإنّ جزيئات النسيج الضام تفيد في وظائف حيوية أخرى هامة كاحتياطي لهرمونات توجيه نمو الخلايا وتمايزها.

يعمل القلب خارج الخلوي للنسيج الضام أيضاً كوسيط يتمّ عبره تبادل المواد الغذائية والفضلات بين الخلايا وترويتها الدموية.

يعكس تنوع أنماط النسيج الضام في الجسم اختلافات في المكونات وكميات العناصر الرئيسية (الخلايا والألياف والمادة الأساسية) ، التي تكون مسؤولة عن البنية الاستثنائية والوظيفية للنسيج الضام. ( Mescher, 2013)

#### 4- السكّري و الغدد اللعابية

ترتبط الغدد اللعابية بشكل مباشر بالهرمونات فقد أشارت العديد من الدراسات إلى التأثيرات المتبادلة بينها وبين البنكرياس ، كما بينت الدراسات التجريبية في آخر 25 عاما أنّ السكّري يسبب تغيرات وظيفية

واستقلابية في الغدد اللعابية الكبيرة .

يعد جفاف الفم أحد الأعراض الشائعة للداء السكري وهو ناجم بشكل أولي عن نقص التدفق اللعابي الذي يرتبط بدوره مع التغيرات التنكسية في الغدد اللعابية (Anderson, 1987) ، أظهرت الدراسات النسيجية الحديثة بأن الخلايا العنابية تتأثر بشكل واضح بالسكري ، كما أشار (High AS, 1985) في دراسته إلى وجود العديد من القطيرات الشحمية صغيرة الحجم المتراكمة في الخلايا المصلية المخاطية للغدة تحت الفك لدى مرضى السكري . و درس (LS, 1979) التغيرات في الغدد اللعابية لدى فئران استحدث لديها السكري بواسطة المجهر الالكتروني و لاحظ تنكساً واضحاً في الخلايا العنابية في كل مراحل السكري وقد وجدوا بأن الإفرازات تتراكم في هياكل الخلايا العنابية .

أشار (Yasuda H, 1982) إلى أنّ استبدال النسيج الضام بالبرانشيم الغدي في الغدة تحت الفك يتناقض مع الإستجابة الفيزيولوجية للغدة و في دراسته التي استحدث فيها السكري لدى الفئران بواسطة STZ وجد بأن حجم العنابات بقي ثابتاً عند معدل 48% لدى مقارنته بالعينات الشاهدة . وقد أظهر الفحص بالمجهر الالكتروني بأن القطيرات الشحمية تتشكل في سيتوبلاسما الخلايا العنابية وفجوات البلعمة الذاتية التي يزيد عددها بازدياد مدة الإصابة بالسكري .

وجد (Reuterving, 1987) عن طريق الفحص بالمجهر الضوئي لدى فئران استحدث لديها السكري بواسطة الألوكسان بأن وزن الغدد اللعابية قد تناقص بوضوح بعد مرور شهر على الإصابة و لم يتغير هذا النقص خلال 12 شهراً التالية و قد اكد بأن قطيرات الشحم تبدأ بالتشكل في الخلايا العنابية منذ المراحل المبكرة و أنّ كمية هذه القطرات ترتبط بمستويات غلوكوز الدم .

يسبب السكرى توسعاً في أنابيب الشبكة الاندوبلاسمية الخشنة و تضخماً في المتقدرات الحيوية مقارنة بالخلايا الطبيعية و لوحظ بان الحبيبات الافرازية قد كانت أصغر من حيث الحجم بشكل عام .

ترتبط الغدد اللعابية بعلاقة مباشرة مع استقلاب الكربوهيدرات و هذه العلاقة تتواسطها انزيم الفا اميلاز الذي تفرزه هذه الغدد و قد اشارت العديد من الدراسات إلى دور السكرى في تخفيض نشاط الاميلاز الذي تفرزه الغدة النكفية و البنكرياس .

## 5- إحداث السكرى بالألوكسان

يعدّ الألوكسان ثاني أشيع المركبات الكيميائية المحدثّة للسكرى. وهو معروف جيداً كعامل مولد للسكرى يستخدم على نطاق واسع في إحداث النمط الأول من السكرى لدى حيوانات التجارب ( Lino Cde et al., 2004 ) .

يعتبر الألوكسان أحد مشتقات اليوريا التي تسبب تموتاً انتقائياً لجزر الخلايا بيتا في البنكرياس. ( Lucchesi et al., 2015 )

يستخدم الألوكسان لإحداث السكرى تجريبياً لدى الحيوانات كالأرانب و الفئران والكلاب، و باستخدامه يمكن إحداث درجات مختلفة من شدة المرض عبر التحكم بالجرعة المقدمة: وهذا يمكن تصنيفه عن طريق قياس سكر الدم الصيامي. مثلاً لدى الأرانب حدد السكرى المتوسط عند مستويات (180-250) ملغ/دل والسكرى الشديد فوق (250) ملغ/دل ، كما أن السكرى الشديد المحدث بالألوكسان يسبب مستويات سكر في الدم تعادل تلك الناجمة عن الاستئصال الكلي للبنكرياس. (Kikumoto et al., 2010)

لإحداث السكرّي المعتدل يعطى الارنب جرعة تعادل 150 ملغ/كغ تعطى عبر الوريد الاذني المحيطي. وتحتاج الأرناب بعدها إلى فترة استراحة تعادل سبعة أيام تعطى خلالها حرية الوصول للطعام و الماء.( Bienert et al., 1995, Yegen et al., 2009, Mir and Darzi, 2012, )

## 6- مشعر الانقسام الخلوي Ki67

مشعر الانقسام الخلوي: بروتين نووي يظهر في الخلايا أثناء نموها خلال دورة حياة الخلية . يعد Ki67 مستضداً نووياً يعبر عنه خلال الطور G1 ، S، G2 من دورة حياة الخلية. ويحدد مستوى تعبيرية هذا المستضد حالة الانقسام الخلوي (Kumar،2007) .

تترافق تعبيرية هذا المشعر بشكل وثيق مع التكاثر الخلوي ، فخلال الطور البيني يعبر مستضده ضمن النواة في حين يعيد تموضعه في طور الانقسام على سطوح الصبغيات . وكونه يعبر خلال الأطوار النشطة من دورة الخلية G1،S،G2 وفي طور الانقسام و يغيب في طور الراحة G0 يجعله الواسم الأفضل درجة النمو و التكاثر لأي نسيج (Scholzen and Gerdes, 2000)

الباب الثاني

المواد والطرق

**Materials and Methods**

## 1 - مواد البحث

### 1-1 حيوانات التجربة

تستخدم الأرانب على نطاق واسع في الأبحاث التجريبية المجراة على الغدد اللعابية وذلك بسبب التشابه النسيجي الذي تبديه الغدد عند الأرانب مقارنة مع الإنسان. (Amano et al., 2012b)

أجريت هذه الدراسة على مجموعة من الأرانب الذكور (عددها 40 أرنباً) متوسط وزنها 2 كلغ تم تقسيمها إلى مجموعتين: مجموعة التجربة : تألفت من (20 أرنباً) تم استحداث السكري عندها المجموعة الشاهدة: تألفت من (20 أرنباً) خضعت لشروط المعيشة نفسها دون استحداث السكري ووضعت المجموعتين وفق نظامها الغذائي لمدة أسبوع كفترة تكيف قبل إجراء التجارب.

### 1-2 مرافق الدراسة

تم وضع الأرانب للمجموعتين الشاهدة والتجربة خلال مدة الدراسة في حاضنة حيوانات التجارب في كلية الصيدلة بجامعة دمشق حيث تم تأمين الوضع المناسب لها من درجة الحرارة والغذاء، وتم أخذ الغدد اللعابية لحيوانات التجربة ومن ثم تقطيعها وتلوينها وإجراء الدراسة المجهرية في قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الاسنان بجامعة دمشق.



الشكل (4) حيوانات التجربة في الحواضن



الشكل (5) تأمين الغذاء والماء لحيوانات التجربة في الحواضن

### 1-3 عينة البحث

تألفت عينة البحث من أزواج الغدد اللعابية (النكفة وتحت الفك) مأخوذة من مجموعة التجربة التي استحدثت السكري عندها عن طريق حقن مادة الألوكسان وفق البروتوكول المحدد وأبقيت بعد استحداث السكري تحت المراقبة لفترة 6 أسابيع مع إجراء معايرة لمستوى غلوكوز الدم كل أسبوع.

أما العينة الشاهدة فتألفت من أزواج الغدد اللعابية (النكفة وتحت الفك) مأخوذة من المجموعة الشاهدة التي لم يستحدث السكري عندها.

### 1-4 المواد والأدوات المستخدمة في إحداث السكري عند حيوانات التجربة

#### 1-4-1 المواد:

- مادة الألوكسان Alloxan tetrahydrate من شركة سيغما (sigma-aldrich.com) ذات القوام الصلب المتماسك صيغتها الكيميائية  $C_4H_2N_2O_4 \cdot 4H_2O$ ، الشكل (9).
- الماء المقطر لحل مادة الألوكسان والمحلول المائي للغلوكوز.
- غلوكوز.

#### 1-4-2 الأدوات:

- ميزان لوزن الأرنب.
- ميزان حساس لوزن الألوكسان، الشكل (10).
- أطباق زرع لحل الألوكسان.
- سيرنجات لحقن المواد.

- جهاز معايرة السكرى مع الشرائح الخاصة به، الشكل(11).

- قطن وشاش وكحول



الشكل (7) الميزان الحساس

الشكل (6) مادة الألوكسان



الشكل (8) جهاز معايرة السكر

### 1-4-3 مواد التلوين النسيجي التقليدي والمناعي

فورمول وكزيلول وكحول وماء مقطر وشمع البارافين.

شرائح زجاجية عادية وشرائح زجاجية للتلوين المناعي.

سائل استرجاع المستضد ومسحوق السائل الدارى.

الملونات النسيجية التقليدية: الهيماتوكسين والأيوزين.

الواسم المناعي : 1- واسم عامل التنشؤ الوعائي VEGF

2- واسم مشعر التكاثر الخلوي Ki67

### 1-4-4 الأجهزة والأدوات المستخدمة

أدوات للتضحية بحيوانات التجربة وأخذ الخزعات: حامل المشروط والمشروط والملقط النسيجي والقطن وعبوات

الفورمالين.

محمّ صهر الشمع والإدماج والمبشرة النسيجية Microtome ومحمّ مائي لفرش المقاطع النسيجية وفرن

التجفيف ومايكروويف والمجهر الضوئي.

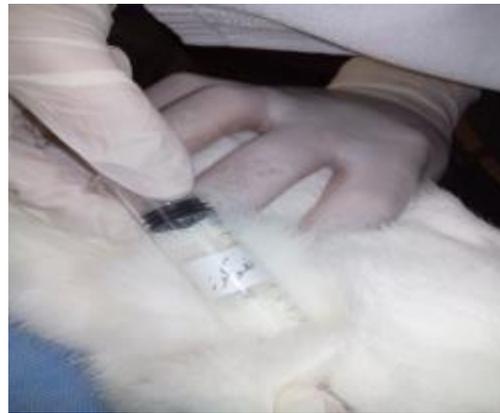
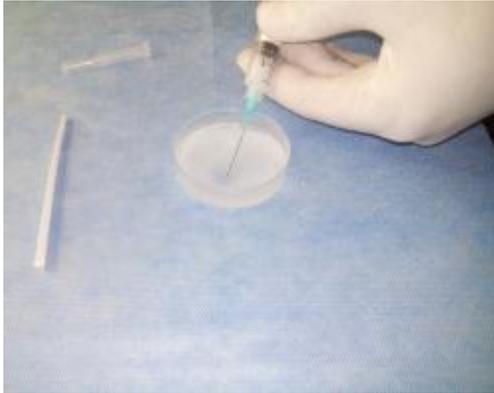
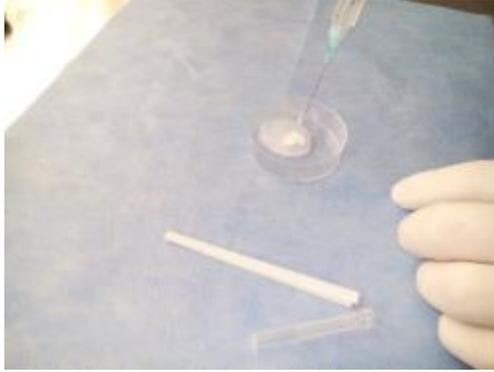
قلم التحديد والممص pipet

2- طرائق البحث:

## 1-2 بروتوكول إحداث السكرى عند حيوانات التجربة

- تبقى الأرانب ليلة كاملة دون طعام (12 ساعة).
- نقوم بمعايرة سكر الدم الصيامي البدئي عند الأرانب قبل إحداث السكرى وذلك بأخذ قطرة دم من (الوريد الأذني الهامشي) ووضعها على الشريحة الخاصة بجهاز المعايرة التي تدخل على الفور في حجرة التحليل للجهاز وبعد مرور 5 ثوان تسجل تراكيز الغلوكوز المقروءة.
- يتم تحضير جرعة الألوكسان الخاصة بكل أرنب وذلك حسب وزنه حيث يعطى بمقدار 180ملغ/كغ.
- يحل الألوكسان بالماء المقطر قبل الحقن مباشرة بنسبة 50 غ/ل.
- يتم حقن الألوكسان في البيرتوان ، أو في الوريد الأذني المحيطي.
- بعد حقن الألوكسان يتم حقن 10 مل من محلول الغلوكوز 20% المحضر مسبقاً تحت الجلد وذلك لمنع حدوث الصدمة.
- تكرر عملية الحقن السابقة 3 مرات بفارق زمني مدته أسبوع.
- بعد عملية الحقن الثالثة بـ 48 ساعة يتم معايرة سكر الدم الصيامي عند الأرانب: إذا كان مستوى السكر ضمن 180-250 mg/dL فالسكرى المحدث متوسط الشدة، أمّا إذا كان أكثر من 250 mg/dL فهو شديد وهو المناسب للدراسة.

- يتمّ التّضحية بالأرانب بعد فترة 6 أسابيع من إحداث السّكري وهي فترة كافية لظهور اختلاطات المرض وخلال هذه الفترة تبقى الأرانب تحت المراقبة مع معايرة سكرّ الدم مرّة كلّ أسبوع.



الشكل (9) يوضّح مراحل تحضير وحقن الألوكسان والغلوكوز

## 2-2 أخذ العينات

تمت التضحية بحيوانات التجربة بعد انتهاء فترة المراقبة (6 أسابيع بعد استحداث السكرى الشديد مع

التأكد من ثبات شدته عن طريق المعايرة الأسبوعية لسكر الدم خلال هذه الفترة )

واستخدمت المواد والأدوات التقليدية لتشريح الأرانب واستئصال الغدد اللعابية وهي:

حامل المشرط والمشرط والملقط النسيجي والقطن. وعبوات خاصة بالفورمالين وسائل الفورمالين.

استؤصلت أزواج الغدد اللعابية (النكفة وتحت الفك) اليمين واليسار من كل أرنب، وتم حفظ العينات بعد

استئصالها بمحلول الفورمالين مدة 48 ساعة على الأقل.



الشكل (10) مجموعة من الصور تبين مواقع الغدد اللعابية

## 3-2 تحضير العينات والتلوين النسيجي التقليدي (الهيماتوكسيلين والإيوزين)

- 1- بعد تثبيت العينات يتم تمريرها بالمراحل المعروفة لتصبح بلوكات شمعية.  
تتضمن هذه المراحل: حمّات الكحول، ثم الكزيلول، ثم الإدماج بالبارفين المنصهر، ثم تُصبّ بقوالب خاصة لنحصل على بلوكات شمعية.
- 2- تم تقطيع العينات والحصول على 3 مقاطع بسماكة 4 ميكرون وذلك باستخدام المبشرة النسيجية ومن ثم تفرش المقاطع في محمّ مائي يحوي ماءً مقطراً، بدرجة حرارة 45 - 40 درجة مئوية، وذلك لإزالة تجاعيدّها، وتحميلها على الشرائح الزجاجية، ثم توضع على الشرائح الزجاجية في فرن بدرجة لا تتجاوز 50 - 45 درجة مئوية لمدة (30-60) دقيقة لتجفيفها من الماء.
- 3- تمرر الشرائح ضمن أحواض تحوي الكزيلول لمدة 2-3 دقائق في كلّ منها للتخلص من البارفين ثم تنقل إلى حمّات متتالية من الكحول المتدرج للتخلص من آثار الكزيلول، ثم تغسل الشرائح بالماء المقطر.
- 4- تغمس الشرائح النسيجية في المحلول المائي للهيماتوكسيلين مدة تتراوح بين 3-5 دقائق ثم تغسل بالماء الجاري لإزالة الهيماتوكسيلين الزائد وتنقل بعدها إلى وعاء يحوي المحلول المائي للإيوزين لمدة تتراوح بين الدقيقة والثلاث دقائق ثم تغسل بالماء مرة أخرى لإزالة الإيوزين الزائد.
- 5- تمرر الشرائح بعدها ضمن حمّات متتالية من الكحول لإزالة الماء من النسيج ومن ثم الكزيلول لطرد الكحول.
- 6- و يتبع ذلك عملية ستر الشرائح الزجاجية بالسواتر الزجاجية باستخدام بلسم كندا ثم تفحص بالمجهر الضوئي.



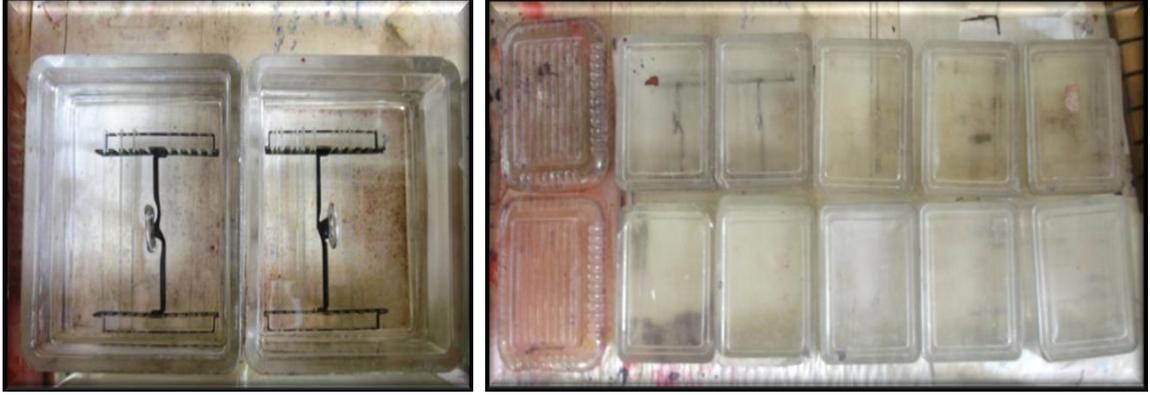
الشكل (12) يبيّن المباشرة النسيجية

الشكل (11) يبيّن فرن صهر الشمع والإدماج

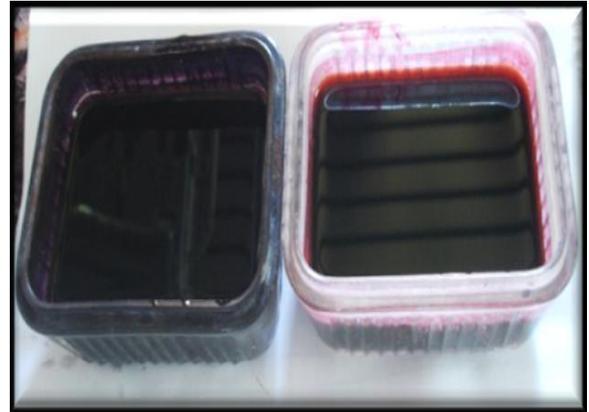
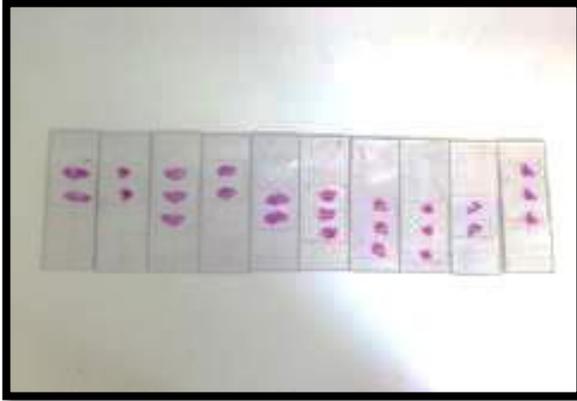


الشكل (14) يبيّن فرن التجفيف

الشكل (13) يبيّن المحم المائي لفرش المقاطع النسيجية



الشكل (15) يبيّن حمامات الكزيلول والكحول



الشكل (16) يبيّن حمامات الهيماتوكسيلين والأيوزين H&E  
الشكل (17) يبين المقاطع النسيجية بعد تلوينها بالـ H&E



الشكل (18) يبيّن المجهر الضوئي المستخدم بالدراسة

#### 2-4 تلوين العينات بالكاشف المناعي

- تحضّر المقاطع النسيجية بالمبشرة النسيجية بسماكة 4 ميكرون.
- توضع المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية المناعية.
- توضع الشرائح في فرن التجفيف مدة 30 دقيقة.
- توضع المحضّرات في حمامين من الاكزيلول النقي لمدة خمس دقائق لكل حمام ثمّ توضع في حمامات متتالية من الكحول ( كحول مطلق ثمّ 75% ثمّ 50% ) مدة خمس دقائق لكل حمام وبعدها تغسل بالماء الجاري.

- تغمس الشرائح الزجاجية ضمن سلات في المحلول المظهر للمستضد وتوضع ضمن المايكروويف حيث يبرمج المايكروويف مدة 30 ثانية بدرجة الحرارة 125 درجة مئوية ثم مدة 10 ثوان بدرجة الحرارة 90 درجة مئوية.
- تترك الشرائح الزجاجية لتبرد بدرجة حرارة الغرفة من 10-20 دقيقة.
- تغسل الشرائح بالماء الجاري خمس دقائق.
- تغمر الشرائح ضمن المحلول الدارئ PBS مدة 3 دقائق حيث يتم تحضيره وفق تعليمات الشركة بإضافة قرص منه لكل 100 مل من الماء المقطر.
- إحاطة العينة النسيجية بقلم تحديد لمنع تسرب المواد المطبقة على النسيج.
- يغمر النسيج بعد ذلك في peroxidase/AP Blocker لمدة خمس دقائق.
- تغسل السلايدات ثلاث مرات في المحلول الدارئ PBS مدة ثلاث دقائق لكل مرة.
- يغطي النسيج بالكاشف المناعي باستخدام الممص حيث طبق ضد الخاص لـki67 و VEGF على الشرائح مدة 45 دقيقة.
- تغسل الشرائح بالمحلول الدارئ PBS ثلاث مرات.
- تغطية النسيج بـ Poly Detector HRP label مدة 45 دقيقة.
- غسل الشرائح ثلاث مرات بالمحلول الدارئ.
- تحضير DAB substrate chromogen solution حيث يضاف قطرة واحدة من PolyDetector DAB Buffer لكل مل من PolyDetector DAB Buffer ويخلط
- تغطية النسيج بـ DAB substrate chromogen solution لمدة 10 دقائق.

- تغسل الشرائح بالماء المقطر خمس مرّات.
- تلون الشرائح بالهيماتوكسيلن ثمّ تغسل بالماء.
- يسحب الماء من النسيج بحمامات الكحول ثمّ يتبع بحمامات الاكزيلول.
- وأخيرا يتمّ الستر بالسواتر الزجاجية وبلسم كندا.

وبذلك نكون قد حصلنا على (80) شريحة ملونة بالهيماتوكسيلين والإيوزين التقليدي و(160) شريحة ملونة بالتلوين المناعي (لمجموع العيّنة الشاهدة وعيّنة التجربة).

حيث تمّ فحص الشرائح الملونة بالهيماتوكسيلين والإيوزين بالمجهر الضوئي للتأكد من نوعية العيّنة وخلوّها من أي علامات التهابية أو تنكسية.



الشكل (20) الممص المستخدم لتطبيق المواد على الشرائح

الشكل (19) قلم لتحديد



الشكل (21) الكيت المناعي المستخدم في التلوين



الشكل (22) غمر الشرائح ضمن محلول PBS الشكل (23) إحاطة العيّنة النسيجية بقلم التحديد



الشكل (24) تطبيق Beroxidase /AP Blocker

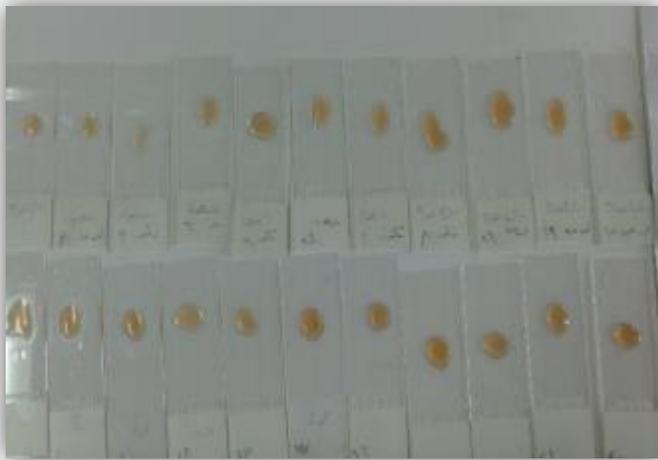


الشكل (26) يبيّن تطبيق الضد الخاص بـ Ki67

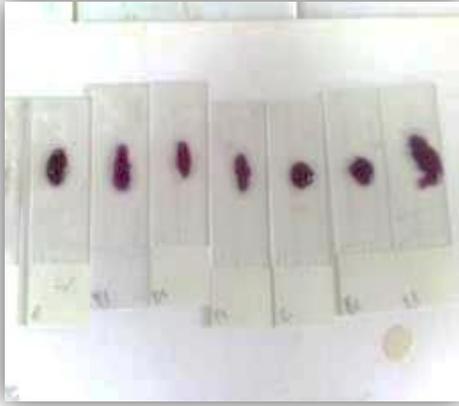
الشكل (25) الضد الخاص بالـ VEGF



الشكل (27) تطبيق Poly Detector/HRP label



الشكل (28) تحضير وتطبيق المحلول DAB substrate chromogen solution



الشكل (29) تلوين الشرائح بالهيماتوكسيلين

## 5-2 معايير قياس الدراسة النسيجية المناعية:

- بما أنّ كلاً من عامل التنشؤ الوعائي و مشعر التكاثر الخلوي هما الواسمان المستهدفان بعملية التلوين المناعي ، فقد تمّت المقارنة:
- في واسم VEGF : بين نسبة الخلايا المتلونة في النسيج الضام و عدد الأوعية الدموية الكلية و المستحدثة في عينة الدراسة و عينة التجربة .
- في واسم Ki67 : بين نسبة الخلايا المتلونة في الساحات المدروسة إلى نسبة تعداد الخلايا الكلي
- وتمّت دراسة العينات من قبل مختصين اثنين بأوقات مختلفة مع التعمية.
- تمّ فحص المحضرات الملونة مناعياً تحت المجهر الضوئي حيث درست أربع ساحات مجهرية عشوائية وأعطيت قيمة وسطية لدرجة التعبير لكامل المحضر.

## 2-6 : الدراسة الاحصائية

تم استخدام برنامج SPSS v.19 لتحليل البيانات التي حصلنا عليها احصائياً، كما تمت الاستعانة ببرنامج ( MS Excel 2013 ) لإنجاز الرسوم البيانية .

إنّ الطرائق الإحصائية التي تمّ استخدامها في تحليل البيانات هي:

### 2-6-1 اختبار ستيودنت لعينتين مستقلتين (Two Independent Samples Student Test) :

اختبار يستخدم لدراسة الفروق بين عينتين مستقلتين، أي مقارنة معيار معين بين مجموعتين منفصلتين،

حيث تحسب قيمة المعنوية (P.value) من إحصاء الاختبار ونقارنها بالقيمة ( $\alpha=0.05$ )، فإذا كانت

( $P.value < 0.05$ ) فإننا نقبل الفرضية البديلة  $H_1$  بثقة 95 %.

ويمكن صياغة الفرضيات التي يختبرها بالشكل التالي:

فرضية العدم  $H_0$ : العينتان المدروستان تعودان إلى المجتمع نفسه ، أي لا يوجد فرق معنوي بين العينتين

أو لا توجد فروق معنوية بين متوسطي المجموعتين .

الفرضية البديلة  $H_1$ : العينتان المدروستان تعودان إلى مجتمعين مختلفين، أي يوجد فرق معنوي بين العينتين

أو توجد فروق معنوية بين متوسطي المجموعتين.

ويشترط هذا الاختبار قبل إجرائه كون القياسات خاضعة للتوزيع الطبيعي وتجانس التباينات بين العينات.

### 2-6-2: معامل ارتباط بيرسون :

يستخدم معمل ارتباط بيرسون ( Pearson Correlation Coefficient ) من أجل معرفة إذا ما كان

هناك تأثير مشترك المتغيرات المدروسة ومن ثمّ وصف هذا التأثير في حال وجود علاقة ارتباط .

ومن أجل معرفة شكل علاقة الارتباط إن وجدت يحسب معامل الارتباط ، حيث تكون قيمته محدودة بالمجال  $(-1, +1)$ ، حيث تدل القيم الموجبة على علاقة طردية ( إيجابية ) بين المتغيرين المدروسين والقيم السالبة تشير إلى علاقة عكسية بينهما ، كما يدل اقتراب قيمة معامل الارتباط من الصفر إلى ضعف العلاقة ويدل اقتراب القيمة من الواحد إلى قوة هذه العلاقة .

نقوم بحساب مستوى المعنوية ( P-value ) من معامل الارتباط ونقارنها بالقيمة  $( a=0.05 )$  ، فإذا كانت  $( P-value < 0.05 )$  فإننا نقبل الفرضية البديلة  $H_1$  بثقة 95 % . حيث نختبر الفرضيات التالية :

فرضية العدم  $H_0$  : لا يوجد ارتباط .

الفرضية البديلة  $H_1$  : يوجد ارتباط .

# الباب الثالث

## النتائج

## Results

## 1 - وصف العينة:

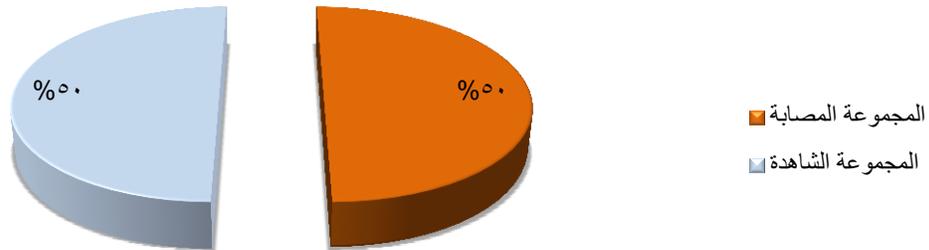
تألفت عينة البحث من 160 مقطعاً لعددٍ لعابية لدى 40 أرنباً، قُسمت الأرنب إلى مجموعتين متساويتين وفقاً للإصابة بالسكري (مجموعة الأرنب المصابين بالسكري، مجموعة الأرنب غير المصابين بالسكري (مجموعة شاهدة)). كما قُسمت الغدد اللعابية المستأصلة إلى مجموعتين (مجموعة الغدد النكفية، مجموعة الغدد تحت الفكية) حيث توزعت عينة البحث كما يلي:

### 1-1 توزيع الأرنب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري:

جدول رقم (3) يبين توزيع الأرنب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

النسبة المئوية	عدد الأرنب	الإصابة بالسكري
50.0	20	مصاب بالسكري
50.0	20	غير مصاب بالسكري
100	40	المجموع

### تقسيم العينة حسب الإصابة بالسكري



مخطط رقم (1) يمثل النسبة المئوية لتوزيع الأرنب في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

2-1 : توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري:

جدول رقم (4) يبين توزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

النسبة المئوية	عدد الغدد	الإصابة بالسكري
50.0	80	مصاب بالسكري
50.0	80	غير مصاب بالسكري
100	160	المجموع

النسبة المئوية لتوزع الغدد اللعابية في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري

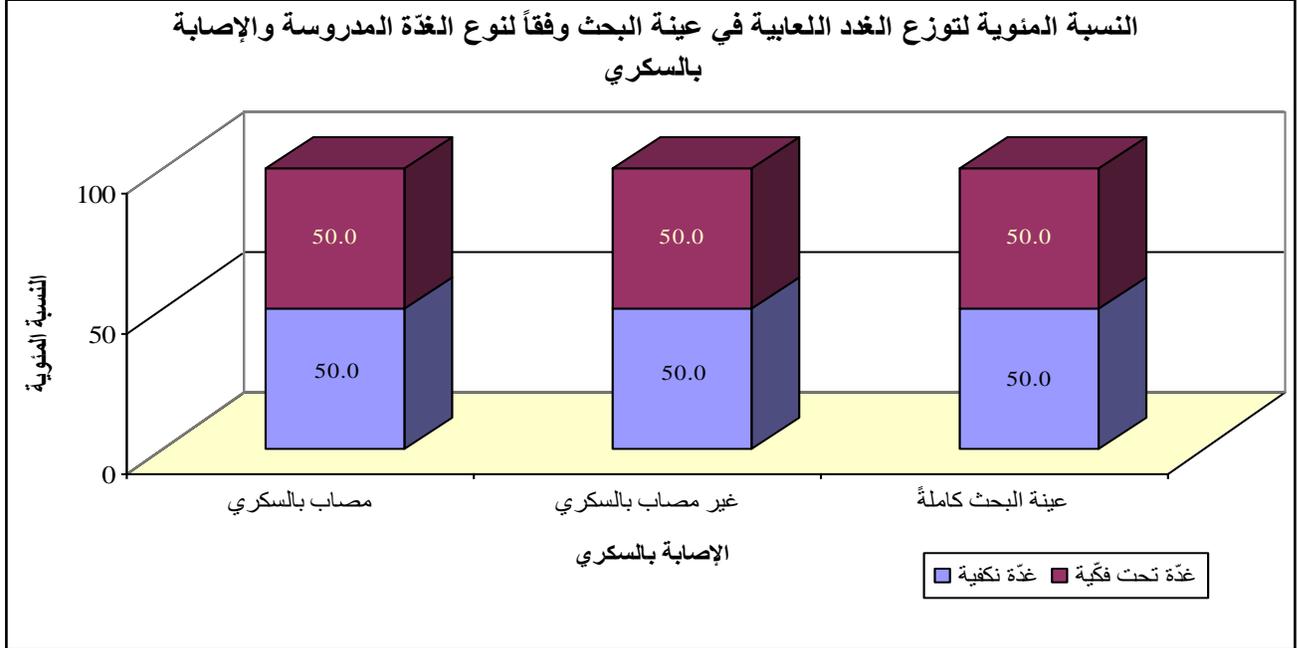


مخطط رقم (2) يمثل النسبة المئوية لتوزع الغدد في عينة البحث وفقاً للإصابة بالسكري.

### 3-1 توزع عيّنة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري:

جدول رقم (5) يبين توزع عيّنة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.

النسبة المئوية			عدد الغدد			الإصابة بالسكري
المجموع	غدة تحت فكية	غدة نكفية	المجموع	غدة تحت فكية	غدة نكفية	
100	50.0	50.0	80	40	40	مصاب بالسكري
100	50.0	50.0	80	40	40	غير مصاب بالسكري
100	50.0	50.0	160	80	80	عيّنة البحث كاملة

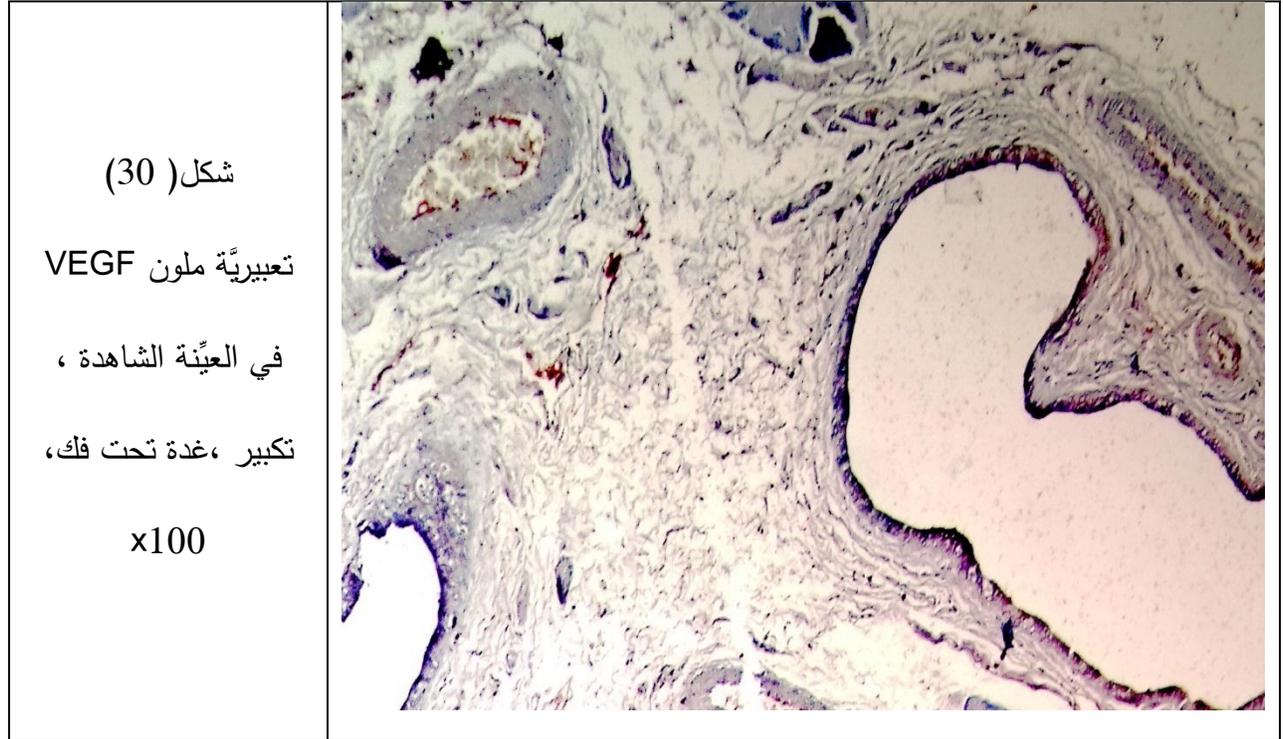


مخطط رقم (3) يمثل النسبة المئوية لتوزع عيّنة البحث وفقاً لنوع الغدة المدروسة والإصابة بالسكري.

## 2: نتائج الدراسة النسيجية المناعية لملون VEGF :

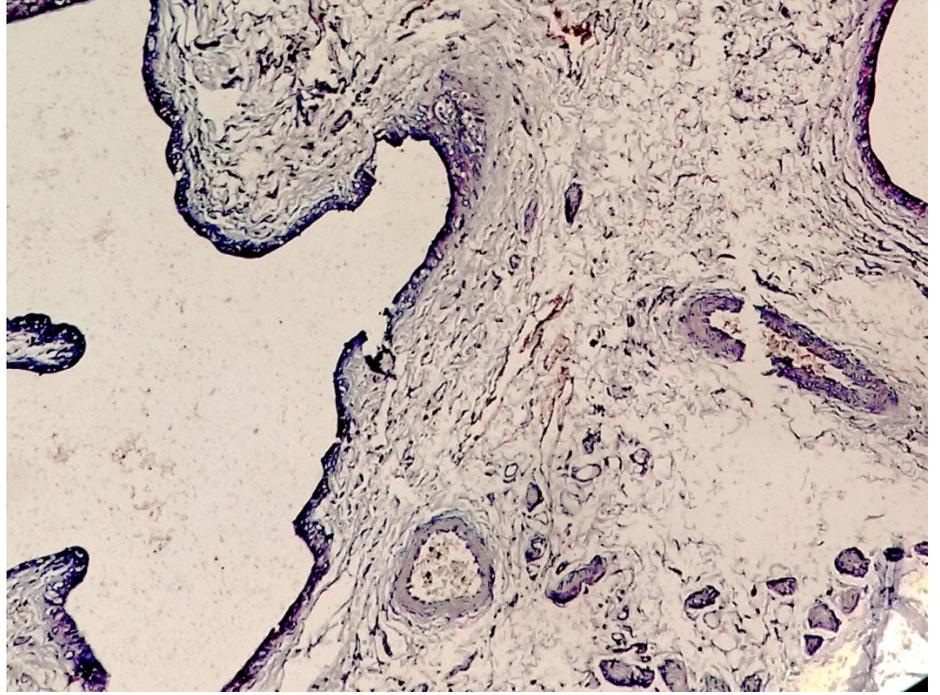
تركزت إيجابية عامل التنشؤ الوعائي VEGF في جدران الأوعية الدموية الموجودة في اللحمية الضامة التي تفصل بين العنبات وذلك في كل من الغدتين النكفية. وقد كانت جميع العينات ايجابية تجاه الملون بدرجات متفاوتة ، ولوحظ ارتفاع هذه الايجابية بشكل طفيف نسبياً في عينة التجربة ، كما لوحظت التعبيرية في

الخلايا البطانية للأوعية الدموية حديثة التنشؤ . كما في الأشكال (30 و31 و32 و33)



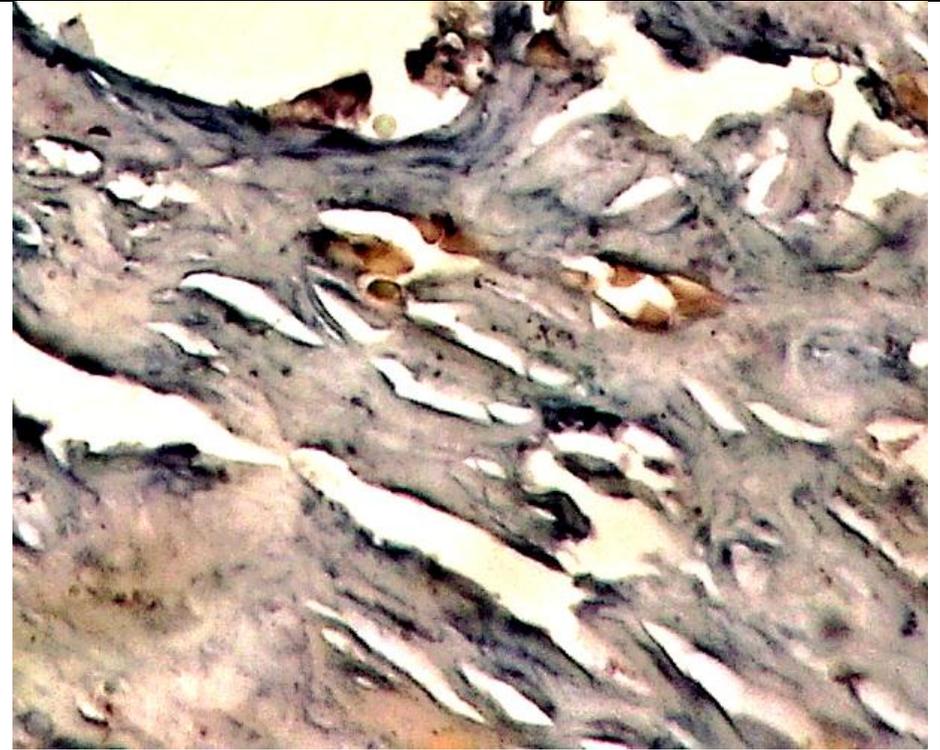
شكل (31)

تعبيريّة ملون VEGF  
في عينة التجريّة و غدة  
تحت الفك ، تكبير  
x100



شكل (32)

تعبيريّة ملون VEGF  
في الأوعية الدمويّة  
المستحدثة في العينة  
الشاهدة ، غدة نكفية،  
تكبير x400



شكل (33)

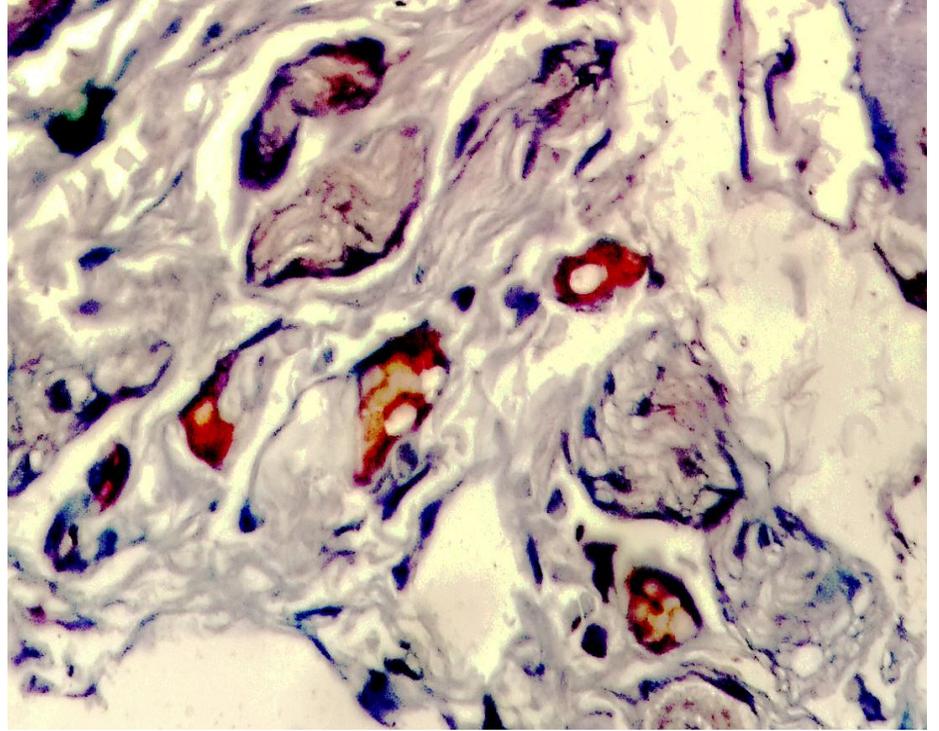
تعبيريّة ملون VEGF

في الأوعية الدمويّة

المستحدثة في عيّنة

التجربة ، غدة نكفية،

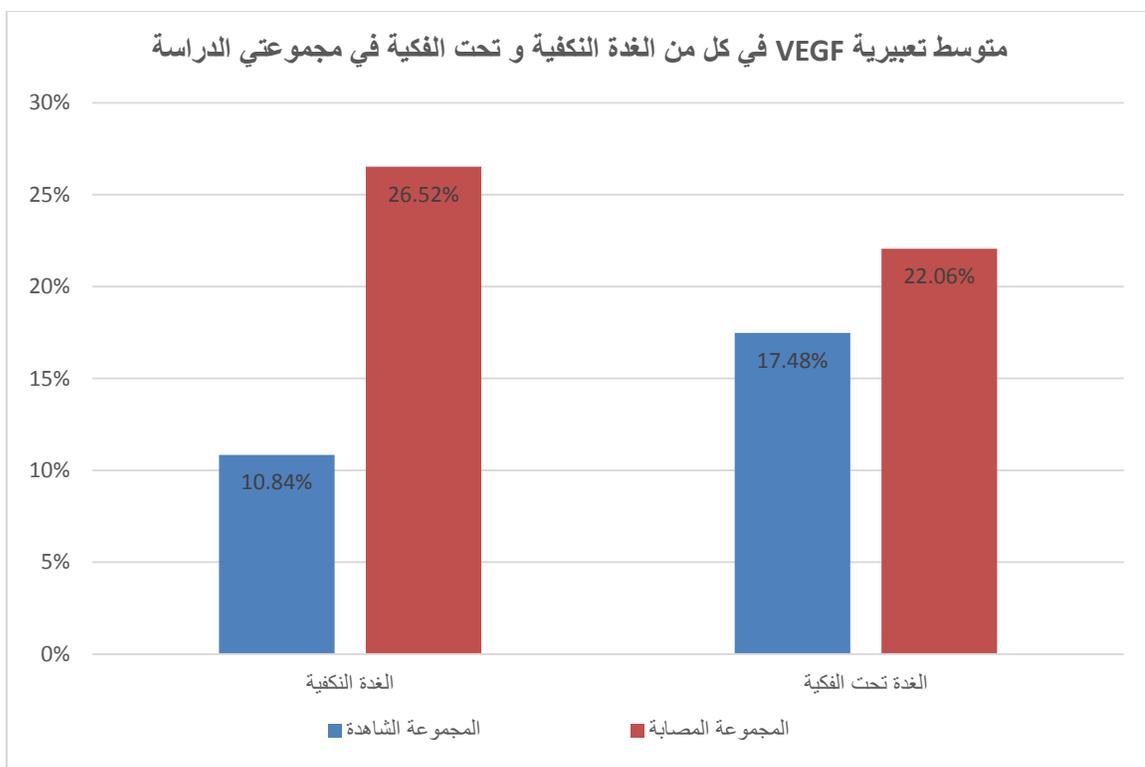
تكبير x400



## 2-1 : الدراسة الاحصائية لملون VEGF

يوضح الجدول التالي أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بتعبيريّة الملون VEGF:

جدول رقم (6) يوضح أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بتعبيريّة الملون VEGF					
المجموعة	الغدة	المتوسط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الشاهدة	النكفيّة	10.840 %	3.926 %	6.136 %	18.547 %
	تحت الفكية	17.477 %	9.750 %	7.146 %	43.103 %
المصابة	النكفيّة	26.523 %	7.359 %	13.447 %	38.724 %
	تحت الفكية	22.057 %	3.734 %	16.455 %	26.197 %



مخطط رقم (4) يظهر متوسطات تعبيرية VEGF في كل من الغدتين في عينة التجربة

لدراسة الفروق في تعبيرية VEGF بين المجموعة الشاهدة والمجموعة المصابة في كل من الغدتين النكفية

وتحت الفك، تجري اختبار ستودنت لعينتين مستقلتين، ونحصل على النتائج التالية:

جدول رقم (7) نتائج اختبار ستودنت في مجموعة VEGF

الاستنتاج	مستوى الدلالة P.value	إحصاء الاختبار t	متوسط الفرق	الغدة
توجد فروق دالة	0.000 *	5.946	15.683 %	النكفية
لا توجد فروق دالة	0.182	1.387	4.580 %	تحت الفك
توجد فروق دالة	0.000 *	4.499	10.131 %	جميع الغدد

وجد من النتائج وبنقّة 95%، وجود فروق ذات دلالة إحصائية في تعبيرية VEGF بين المجموعة الشاهدة والمجموعة المصابة في الغدّة النكفية وفي كامل العينة، حيث سجلت المجموعة المصابة تعبيرية أعلى، بينما لم تكن الفروق في الغدّة تحت الفكية -بشكل منفصل- ذات دلالة إحصائية.

لدراسة الفروق في تعبيرية VEGF بين الغدتين النكفية وتحت الفكية، تجري اختبار ستيودنت لعينتين مستقلتين وذلك في كل من المجموعتين الشاهدة والمصابة وفي كامل العينة، ونحصل على النتائج التالية:

جدول رقم (8) نتائج اختبار ستيودنت بين العينات المستقلة و في كامل العينة لل VEGF

المجموعة	متوسط الفرق	إحصاء الاختبار t	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
الشاهدة	6.637 %	1.997	0.061	لا توجد فروق دالة
المصابة	4.466 %	1.712	0.104	لا توجد فروق دالة
كامل العينة	1.085 %	0.390	0.699	لا توجد فروق دالة

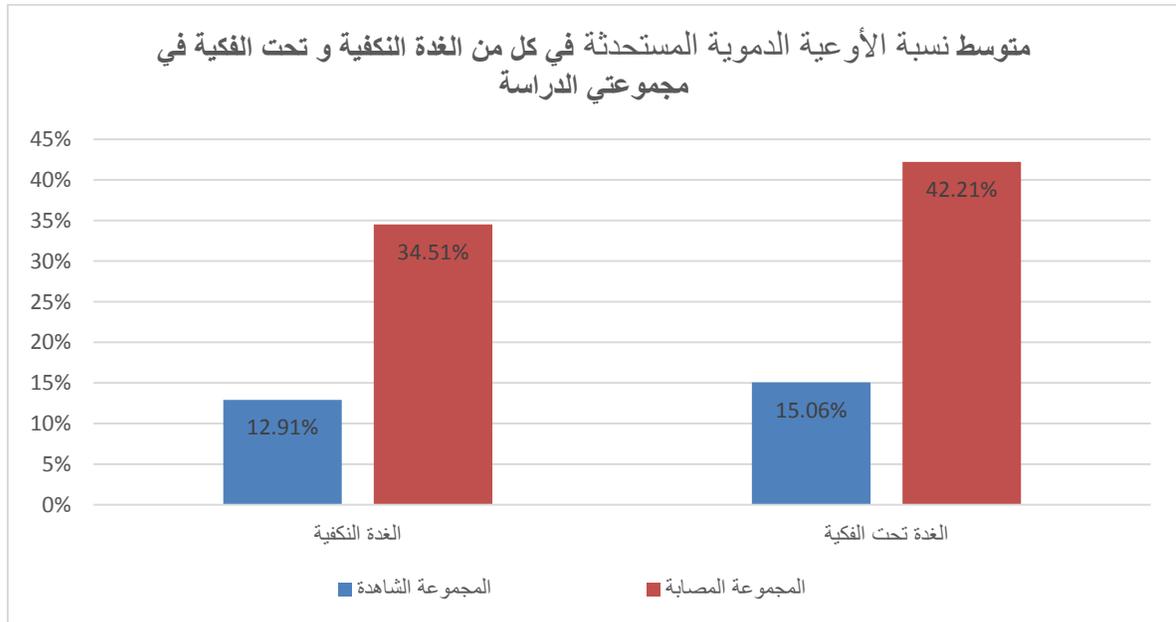
وجد من النتائج وبنقّة 95%، عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية في تعبيرية VEGF بين الغدتين النكفية وتحت الفكية في المجموعة الشاهدة ولمجموعة المصابة وفي كامل العينة.

## 2-2: دراسة نسبة الأوعية الدموية المستحدثة:

يوضح الجدول التالي أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بنسبة الأوعية الدموية المستحدثة VEGF:

جدول رقم (9) يبين أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بنسبة الأوعية الدموية المستحدثة VEGF

المجموعة	الغدة	المتوسط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الشاهدة	النكفية	12.905 %	8.272 %	0.000 %	26.316 %
	تحت الفكية	15.056 %	6.359 %	0.000 %	22.222 %
المصابة	النكفية	34.511 %	11.380 %	15.385 %	55.556 %
	تحت الفكية	42.205 %	10.700 %	30.000 %	57.143 %



مخطط رقم (5) يظهر متوسط نسبة الأوعية الدموية المستحدثة في كل من الغدة النكفية و تحت الفكية في مجموعتي الدراسة

لدراسة الفروق في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة بين المجموعة الشاهدة والمجموعة المصابة في كل من

الغذتين النكفية وتحت الفكية، تجري اختبار ستيودنت لعينتين مستقلتين، ونحصل على النتائج التالية:

جدول رقم (10) نتائج اختبار ستيودنت لدراسة الفروق في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة

الغدة	متوسط الفرق	إحصاء الاختبار t	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
النكفية	21.606 %	4.856	0.000 *	توجد فروق دالة
تحت الفكية	27.149 %	6.897	0.000 *	توجد فروق دالة
جميع الغدد	24.377 %	8.038	0.000 *	توجد فروق دالة

وجد من النتائج وبنسبة 95%، وجود فروق ذات دلالة إحصائية في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة VEGF بين المجموعة الشاهدة والمجموعة المصابة في الغدة النكفية وفي الغدة تحت الفكية وفي كامل العينة، حيث سجلت المجموعة المصابة نسبة أوعية دموية مستحدثة أعلى.

لدراسة الفروق في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة بين الغذتين النكفية وتحت الفكية، تجري اختبار ستيودنت لعينتين مستقلتين وذلك في كل من المجموعتين الشاهدة والمصابة وفي كامل العينة، ونحصل على النتائج التالية:

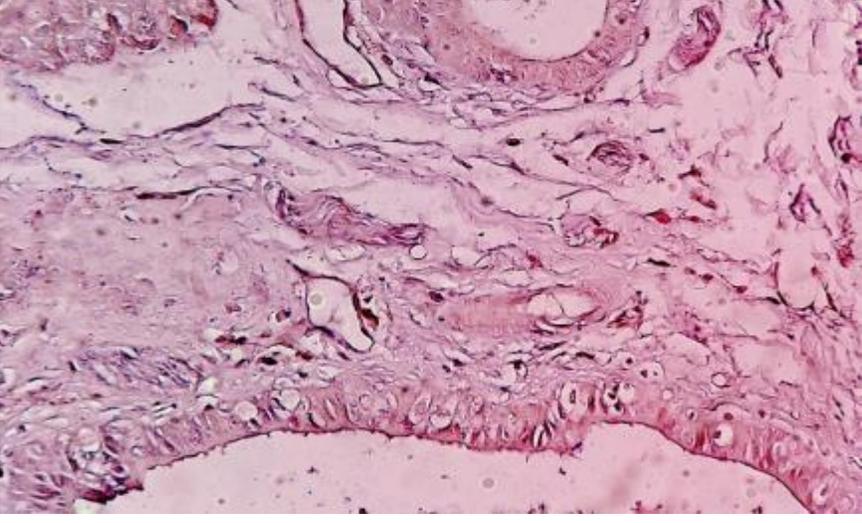
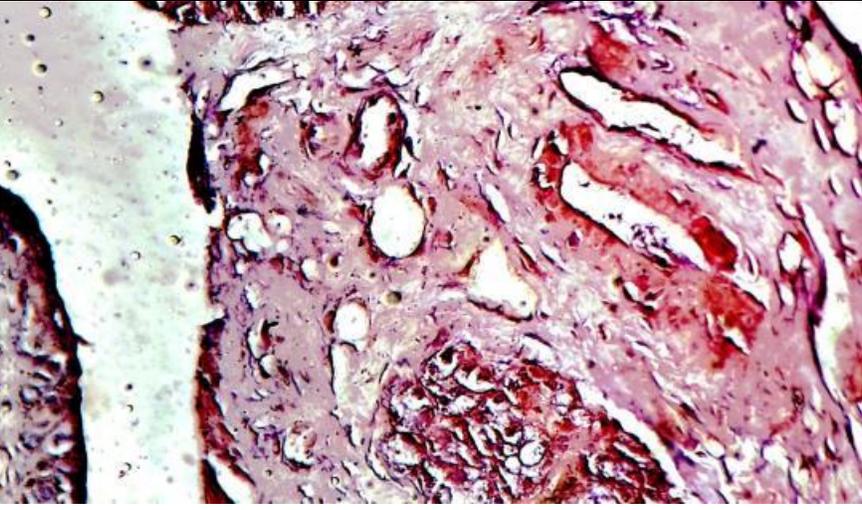
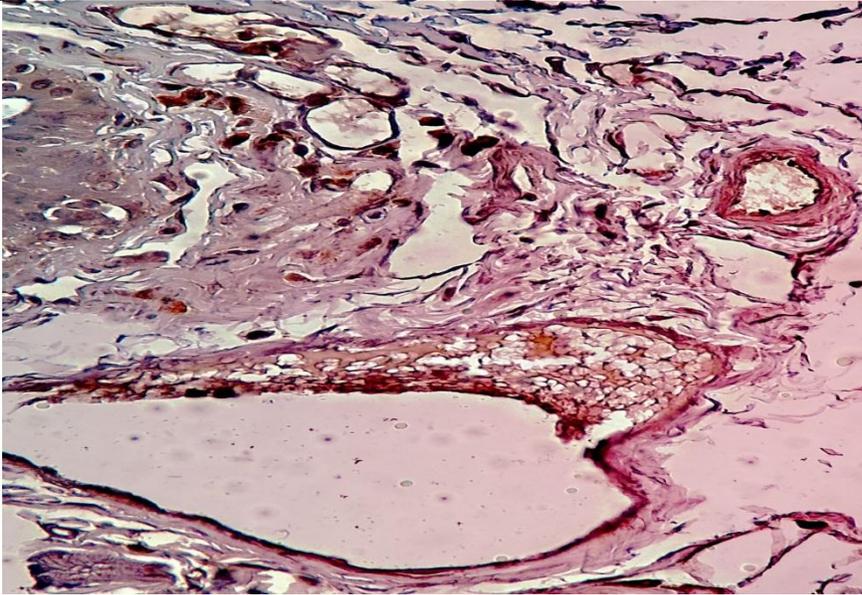
جدول رقم (11) نتائج اختبار ستيودنت لدراسة الفروق في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة بين الغدتين النكفية وتحت الفكية

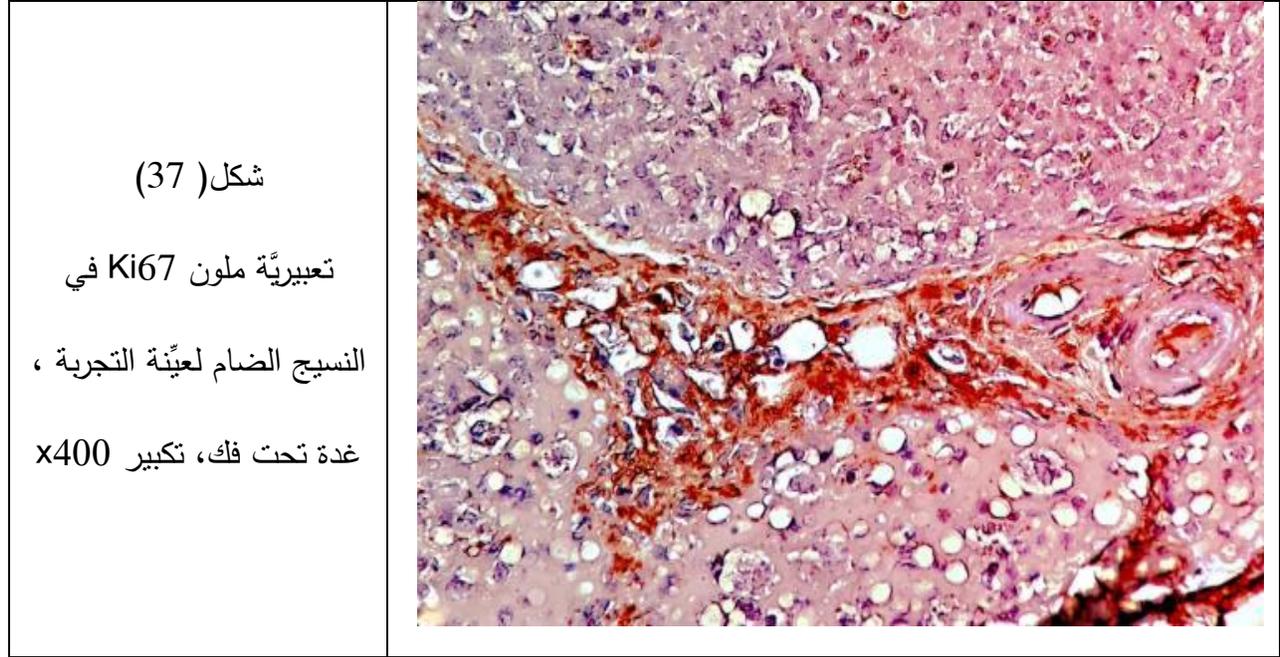
المجموعة	متوسط الفرق	إحصاء الاختبار t	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
الشاهدة	2.150 %	0.652	0.523	لا توجد فروق دالة
المصابة	7.693 %	1.557	0.137	لا توجد فروق دالة
كامل العينة	4.922 %	1.001	0.323	لا توجد فروق دالة

نجد من النتائج وبتقة 95%، عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة VEGF بين الغدتين النكفية وتحت الفكية في المجموعة الشاهدة والمجموعة المصابة وفي كامل العينة.

### 3 : نتائج الدراسة النسيجية المناعية لملون Ki67 :

تم تحري تعبيرية مشعر الانقسام الخلوي Ki76 في الغدد اللعابية لكل من عينتي الدراسة و العينة الشاهدة ، وقد لوحظ تفاوت تعبيريته في الحجب الضامة ، لكن جميع العينات ابدت ايجابية تجاه الملون ، كما في الأشكال التالية :

<p>شكل (34)</p> <p>تعبيريّة ملون Ki67 في النسيج الضام للعيّنة الشاهدة ، غدة نكفية، تكبير x400</p>	
<p>شكل (35)</p> <p>تعبيريّة ملون Ki67 في النسيج الضام لعيّنة التجريبية ، غدة نكفية، تكبير x400</p>	
<p>شكل (36)</p> <p>تعبيريّة ملون Ki67 في النسيج الضام للعيّنة الشاهدة ، غدة تحت فك، تكبير x400</p>	

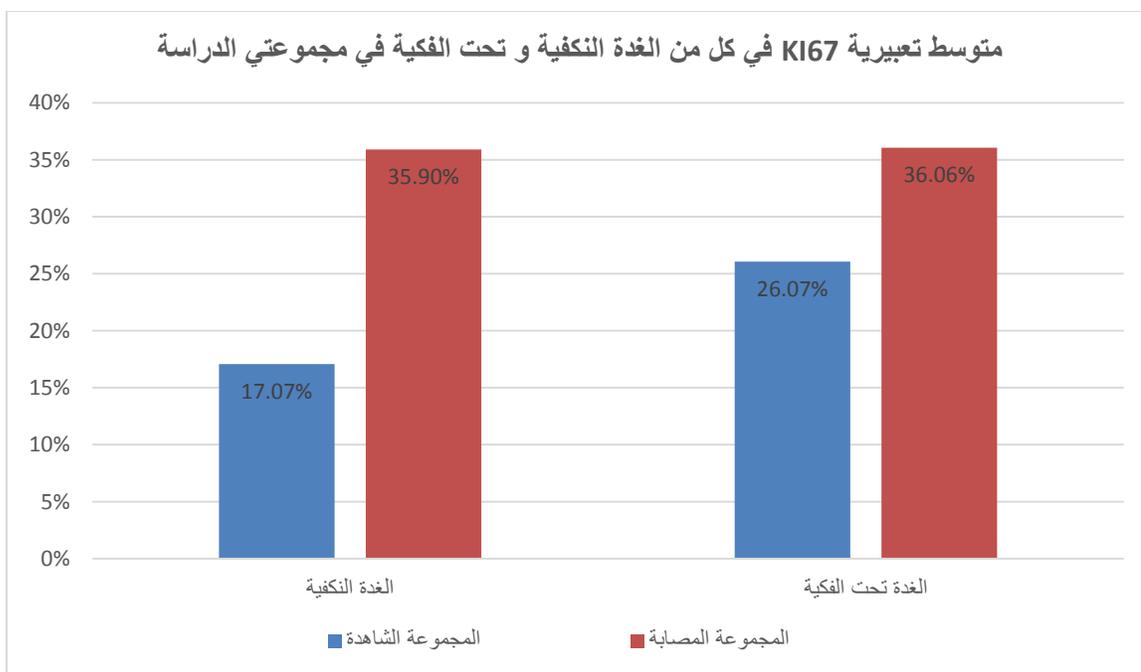


### 3- 1 : الدراسة الاحصائية لمون Ki67 :

يوضح الجدول التالي أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بتعبيرية الملون Ki67:

جدول رقم(12) يبين أهم الإحصاءات الوصفية المتعلقة بتعبيرية الملون Ki67

المجموعة	الغدة	المتوسط	الانحراف المعياري	أدنى قيمة	أعلى قيمة
الشاهدة	النكفية	17.070 %	5.389 %	9.858 %	25.034 %
	تحت الفكية	26.067 %	10.189 %	15.641 %	43.103 %
المصابة	النكفية	35.896 %	8.994 %	21.780 %	47.293 %
	تحت الفكية	36.061 %	10.327 %	16.281 %	53.497 %



مخطط رقم (6) يظهر متوسط تعبيرية KI67 في كل من الغدة النكفية و تحت الفكية في مجموعتي الدراسة

لدراسة الفروق في تعبيرية KI67 بين المجموعة الشاهدة و المجموعة المصابة في كل من الغدتين النكفية و

تحت الفكية، تجري اختبار ستودنت لعينتين مستقلتين، و نحصل على النتائج التالية:

جدول رقم (13) يظهر الفروق في تعبيرية KI67 بين المجموعة الشاهدة و المجموعة المصابة

الاستنتاج	مستوى الدلالة P.value	إحصاء الاختبار t	متوسط الفرق	الغدة
توجد فروق دالة	0.000 *	5.678	18.826 %	النكفية
توجد فروق دالة	0.043 *	1.179	9.994 %	تحت الفكية
توجد فروق دالة	0.000 *	4.899	14.410 %	جميع الغدد

وجد من النتائج وبنقّة 95%، وجود فروق ذات دلالة إحصائية في تعبيرية Ki67 بين المجموعة الشاهدة والمجموعة المصابة في كل من الغدتين النكفية وتحت الفكّية وفي كامل العينة، حيث سجلت المجموعة المصابة تعبيرية أعلى.

لدراسة الفروق في تعبيرية Ki67 بين الغدتين النكفية وتحت الفكّية، تجري اختبار ستيودنت لعينتين مستقلتين وذلك في كل من المجموعتين الشاهدة والمصابة وفي كامل العينة، ونحصل على النتائج التالية:

جدول رقم (14) نتائج اختبار ستيودنت لتعبيرية Ki67 في كل من المجموعتين الشاهدة والمصابة وفي كامل العينة

المجموعة	متوسط الفرق	إحصاء الاختبار t	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
الشاهدة	8.997 %	2.468	0.024 *	توجد فروق دالة
المصابة	0.165 %	0.038	0.970	لا توجد فروق دالة
كامل العينة	3.683 %	1.244	0.221	لا توجد فروق دالة

وجد من النتائج وبنقّة 95%، وجود فروق ذات دلالة إحصائية في تعبيرية Ki67 بين الغدتين النكفية وتحت الفكّية في المجموعة الشاهدة، حيث سجلت الغدة النكفية تعبيرية أقل منها في الغدة تحت الفكّية، بينما لم تسجل فروق دالة إحصائية في المجموعة المصابة و في كامل العينة.

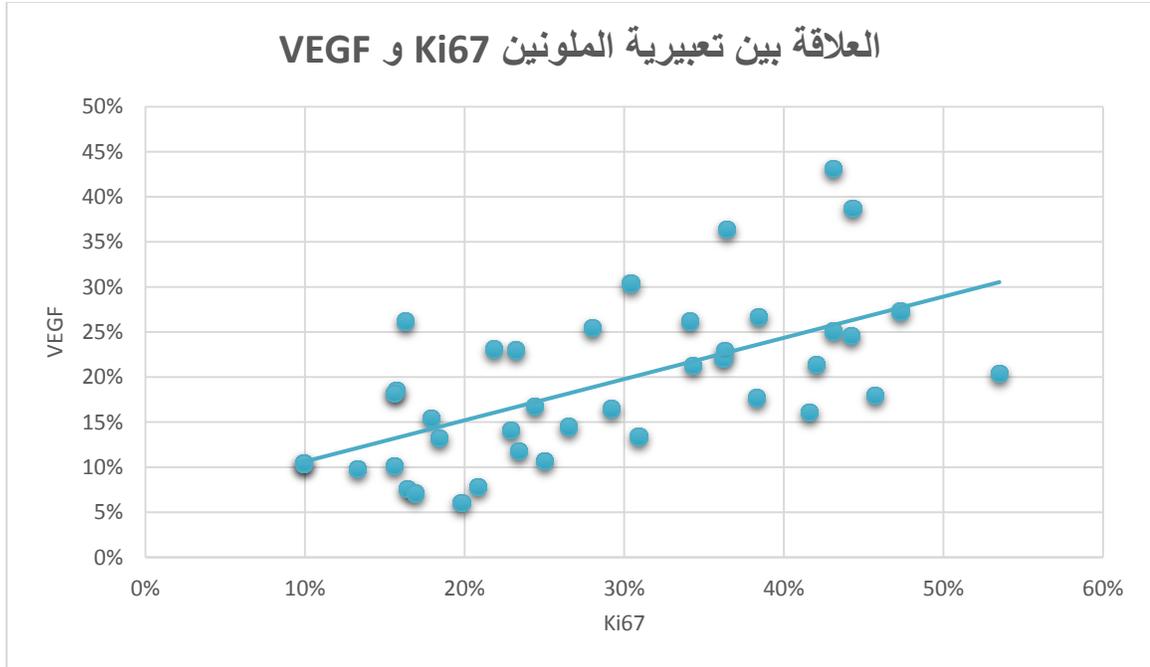
### 3: العلاقة بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF:

لدراسة الارتباط بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF، نحسب معامل ارتباط بيرسون، ويلخص الجدول

التالي النتائج:

جدول رقم (15) يظهر حساب معامل ارتباط بيرسون لدراسة الارتباط بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF

المجموعة	معامل الارتباط r	مستوى الدلالة P.value	الاستنتاج
الشاهدة	0.665	0.001 *	توجد علاقة ارتباط إيجابية متوسطة الشدة
المصابة	0.061	0.797	لا توجد علاقة ارتباط
كامل العينة	0.616	0.000 *	توجد علاقة ارتباط إيجابية متوسطة الشدة



مخطط رقم (7) يظهر العلاقة بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF

تبين النتائج وجود علاقة ارتباط إيجابية متوسطة الشدة بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF، بحيث ان ارتفاع أحدهما يترافق مع ارتفاع الاخر والعكس بالعكس.

الباب الرابع

المناقشة

Discussion

تعد الاختلالات التي تصيب الأوعية و الشعيرات الدموية من أهم مسببات ارتفاع معدل الأمراض و الوفيات عند مرضى السكري بنمطيه الأول و الثاني . وتشارك العديد من أنواع عوامل النمو و الوسائط الخلوية في إحداث التأثيرات السلبية لفرط غلوكوز الدم Hyperglycemia ، و أكثر هذه العوامل أهمية هي : هرمون النمو الشبيه بالأنسولين و  $TGF-\beta$  اضافة إلى عامل التنشؤ الوعائي البطاني VEGF الذي كان محور دراستنا (, de Vriese et al., 2001aVilskersts et al., 2013)

يشترك عامل التنشؤ الوعائي البطاني في إحداث الاختلالات الوعائية المصاحبة لاعتلالات الشبكية والكلى و بعض اختلالات الغدد اللعابية عند مرضى السكري ، حيث انه يلعب دوراً مركزياً في توسط حدوث سوء وظيفة الخلايا البطانية و الاعتلالات الوعائية (Flyvbjerg, De Vriese et al., 2001b) , (2000).

إنّ زيادة فهم الآليات الجزيئية التي تكمن خلف أدوار VEGF في إحداث تلك الأمراض يساعدنا على تطوير مقاربات علاجية جديدة وواعدة. حيث أنه من العوامل التي تساهم في تشكيل التوعية الدموية وله دور رئيسي في النفوذية الوعائية. وتعزز زيادة إنتاج عامل VEGF وزيادة تعبيره من التنشؤات الوعائية الحديثة .

قمنا في هذا البحث بتحري التغيرات الحاصلة في تعبيرية عامل التنشؤ الوعائي البطاني ومحاولة ربطها مع مشعر التكاثر الخلوي بحثاً عن أدلة تشير إلى دور هذا العامل في إحداث التغيرات التي تطرأ على مستوى الغدد اللعابية عند الأرناب التي استحدثت لديها الاصابة بداء السكري .

## 1 - عامل التنشؤ الوعائي البطاني VEGF :

لاحظنا في دراستنا ارتفاع تعبيرية عامل التنشؤ الوعائي البطاني في النسيج الضام للغدد اللعابية عند الأرناب التي استحدثت الداء السكري لديها مقارنة بالأرناب السليمة وقد ظهرت هذه الزيادة بشكل خاص في الغدة النكفية ، كما وجدنا ارتفاعاً في نسبة الأوعية الدموية المستحدثة في كلا الغدتين ، دون أن يكون هناك فرق دال احصائياً بين الغدة النكفية وتحت الفك بالنسبة إلى الواسم المناعي لـ VEGF . وهذا يتوافق مع الدور الذي يلعبه فرط غلوكوز الدم في الجسم الزجاجي و الخلط المائي للعين الذي يرافق اعتلال الشبكية السكري ، حيث ترتفع مستويات VEGF بشكل ملحوظ (Aiello et al., 1994, Adamis et al., 1994) ، كما تتوافق هذه الزيادة في التعبيرية مع ما يحدث في اعتلال الكلى السكري الذي يشكّل السبب الأهم و الأكثر شيوعاً للوصول إلى المرحلة الإنتهائية من الفشل الكلوي ، (Held et al., 1991) حيث يشارك VEGF في تحييد أضداد anti-VEGF مؤثراً بشكل ملحوظ على النفوذية الوعائية (de Vriese et al., 2001a , Flyvbjerg et al., 2002)

قد تكون زيادة تعبيرية VEGF التي لاحظناها في الغدد اللعابية عند الأرناب المصابة بالسكري ناجمة عن زيادة إفراز هذا العامل في محاولة للمعاوضة عن نقص الأكسجة و نقص الوارد الغذائي الذي يزود النسيج الغدي النشط في إفراز اللعاب ، حيث يؤدي عامل التنشؤ الوعائي البطاني دوره في تعزيز تشكل الأوعية الريدفة ويزيد من نفوذية الجملة الوعائية المجهريّة (Ferrara and Ferrara and Gerber, 2001) ، وهذا يتوافق مع دور هذا العامل في حالات اعتلالات الشبكية السكري حيث يعد

مسؤولاً عن حدوث التشكلات الوعائية الحديثة المرافقة لاعتلال الشبكية التكاثري وفي احداث التغيرات في الحاجز الشبكي الدموي الذي يتّصف بفرط النفوذية للأوعية الشبكية (Witmer et al., 2003)

يمكن أن نستنتج من ارتفاع تعبيرية الواسم المناعي لـ VEGF بأن هذا العامل يقوم بدور هام كوسيط خلوي في الحفاظ على استقرار النسيج الضام و الأغشية القاعدية المخاطية - وهذا يفسر ارتفاع نسبته بشكل أكبر في الغدة النكفية ، حيث أن التشكلات الوعائية المستحدثة الناجمة عن زيادة افراز هذا العامل اضافة إلى طرحه في اللعاب يساهم في تسريع عمليات شفاء الجروح والتقرّحات الحاصلة في الحفرة الفموية لدى مريض السكري ، و أكثر من ذلك فقد يساهم عامل VEGF في زيادة نفوذية الأوعية الشعرية داخل الغدة وبذلك يشارك في تنظيم الافراز اللعابي (Pammer et al., 1998)

## 2 - مشعر الانقسام الخلوي Ki67

تترافق تعبيرية هذا المشعر بشكل وثيق مع التكاثر الخلوي ، فخلال الطور البيئي يعبر مستضده ضمن النواة في حين يعيد تموضعه في طور الانقسام على سطوح الصبغيات . وكونه يعبر خلال الأطوار النشطة من دورة الخلية G1،S،G2 وفي طور الانقسام و يغيب في طور الراحة G0 يجعله الواسم الأفضل درجة النمو و التكاثر لأي نسيج (Scholzen and Gerdes, 2000)

اشارت الدراسة الاحصائية إلى ارتفاع تعبيرية هذا المشعر في خلايا النسيج الضام للغدد اللعابية عند الارانب المصابة بالسكري و هذا يشير إلى زيادة قدرة هذه الخلايا على التضاعف و الانقسام بعد الاصابة وذلك التأثير يعاكس ما أشارت اليه بعض الدراسات التي اجريت على خلايا البنكرياس ( Martin-Pagola et )

(al., 2008) والتي ركزت على خلايا الأوعية المفرغة و خلايا بيتا المفرزة للأنسولين والتي من النادر ان تنقسم بعد عمر ال 10 سنوات (Gregg et al., 2012). وايضاً يخالف ما وجده ( Acikgoz et al., 2004) الذين لم يجدو فرقاً ملحوظاً في النشاط الانقسامى للظهارة اللثوية الفموية عند مقارنتها بين مرضى مصابين بالسكر و مرضى معافين .

لكن هذه الزيادة في معدل التكاثر الخلوي عند الاصابة بالسكري تتوافق مع (Li et al., 2014) الذين لاحظوا ارتفاع معدل التكاثر الخلوي في ظهارة القولون و المستقيم عند مرضى النمط 2 من السكري ، وقد ربطوا هذا الارتفاع مع تراكم بروتين البيتا-كاتينين الذي يفعل عوامل الانتساخ داخل النواة و تغيرات الفسفرة داخل الخلوية .

من المعروف بأن الداء السكري يترافق مع زيادة خطر تطور الأورام - حيث يرتفع مشعر التكاثر الخلوي بشكل ملحوظ - نتيجة كبت أنزيم AMPK ( adenosine monophosphate-activated protein kinase ) الذي يقوم بتقليل كمية البروتينات المصنعة و معدل التكاثر الخلوي ، و زيادة نشاط أنزيم الأروماتاز aromatase كما في الخلايا اللحمية للغدد الثديية، و قد تتجم تلك التغيرات في الأنشطة الأنزيمية عن فرط سكر الدم أو فرط الانسولينية أو مقاومة الانسولين بالإضافة إلى عوامل أخرى (Gallagher and LeRoith, 2011).

### 3 - العلاقة بين تعبيرية الواسمين Ki67 و VEGF

لم ترد في مراجعتنا للأدب الطبي أي دراسة ربطت بين تعبيرية كلا الواسمين في الغدد اللعابية عند الحيوانات المصابة بالسكري . وجدنا علاقة ارتباط إيجابية متوسطة الشدة بين تعبيرية الملونين Ki67 و VEGF، بحيث

ان ارتفاع أحدهما يترافق مع ارتفاع الاخر والعكس بالعكس ، كانت هذه العلاقة متوسطة الشدة في العينة الشاهدة ، في حين لم نجد أي ارتباط بين الواسمين في الغدد اللعابية عند الأرناب المصابة بالسكري . وهذا من المفترض أن يدل على ان كل من العاملين يقوم بدوره بشكل مستقل عن الآخر .

**الباب الخامس**

**الاستنتاجات**

conclusions

نستنتج ضمن حدود هذا البحث

1- كانت تعبيرية عامل التنشؤ الوعائي VEGF في الغدد اللعابية عند الأرناب التي

استحدثت السكري لديها أعلى بشكل ملحوظ من تعبيريتها في الغدد اللعابية عند

الأرناب السليمة .

2- كانت تعبيرية مشعر التكاثر Ki67 في الغدد اللعابية عند الأرناب التي استحدثت

السكري لديها أعلى بشكل ملحوظ من تعبيريتها في الغدد اللعابية عند الأرناب

السليمة .

3- لم ترتبط تعبيرية أي من الواسمين مع تعبيرية الآخر عند الأرناب المصابة بالسكري

في حين ارتبط في العينة الشاهدة .

# الباب السابع

## المقترحات و التوصيات

Suggestions &

Recommendations

1. نقترح دراسة التغيرات الحاصلة على عامل التنشؤ الوعائي VEGF على فترات زمنية أطول .
2. نقترح دراسة التغيرات الحاصلة على مشعر التكاثر الخلوي Ki67 على فترات زمنية أطول .
3. نقترح اجراء دراسة بالتلوين المناعي المضاعف لكل من الواسمين وذلك في الخلايا البطانية للأوعية الدموية في الغدد اللعابية عند الحيوانات المصابة بالسكري .
4. نقترح اجراء دراسة لتحري وجود عامل VEGF في اللعاب المفرز عند مرضى السكري و مقارنته مع اللعاب الطبيعي .
5. نقترح اجراء مقارنة لتعبيرية كل من الواسمين بين النمطين الأول و الثاني للسكري .
6. دراسة السكرى الحلمي بشكل خاص وتحري فيما إذا كان تأثيره على الغدد اللعابية عابر أو نسيجي غير ردود.

## الملخص

يعد الداء السكري من الامراض الخطيرة واسعة الانتشار في مختلف المجتمعات ، وهو يؤدي إلى مضاعفات خطيرة اضافة إلى العديد من التغيرات على المستوى الفيزيولوجي و النسيجي في الحفرة الفموية ، ويبدو ان اختلاطاته الوعائية المجهريّة قد يكون لها تأثير واضح على بنية ووظيفة هذه الغدد .

## الهدف من البحث :

دراسة التغيرات الحاصلة في كل من مشعر الانقسام الخلوي Ki67 و عامل التنشؤ الوعائي VEGF في حالات الاصابة بالسكري عند الأرانب و مقارنتها بالحالة الطبيعية .

## مواد وطرائق البحث

تألفت عيّنة البحث من 40 أرنباً تم احداث السكري لدى 20 منها بواسطة الألوكان ، تمت التضحية بالحيوانات بعد 6 اسابيع من اصابتها بالسكري و استؤصلت الغدة النكفية و تحت الفك من كلا المجموعتين ، بعد تقطيع الغدد مخبرياً تم تلوينها بواسمات VEGF و Ki67 ، حيث تم احصاء الأوعية الدموية المُستحدثة و الخلايا المُتكاثرة ، ومقارنة العيّنة الشاهدة مع عيّنة التجربة ودور كلا الواسمين باستخدام اختبار ستودنت و عامل ارتباط بيرسون .

## النتائج

اظهرت النتائج ان هناك تأثيراً واضحاً لمرض السكري على زيادة تعبيرية VEGF حيث ارتفعت نسبته بما يقارب 10% ,  $P<0.05$  ، كما ارتفعت نسبة الأوعية الدموية المستحدثة بنسبة تقارب 24% ,  $P<0.05$  . أما مشعر التكاثر الخلوي فقد ارتفعت تعبيريته بنسبة 14% ,  $P<0.05$  في مجمل الغدتين المدروستين.

## الخلاصة :

يؤدي الداء السكّري إلى رفع مستوى التكاثر الخلوي وزيادة احداث الأوعية الدموية في الغدد اللعابية عند الأرانب وقد يكون ذلك نتيجة لحاجة النسيج الغدي إلى معاوضة نقص التغذية الواصلة إلى الخلايا العنابية النشيطة في افراز اللعاب .

**Abstract :**

Diabetes mellitus is one of the serious , wide disturbance diseases in various societies. It leads to a serious complications , in addition to many physiological and histological changes in the oral cavity . it seems that its micro-vascular complications may have a clear effects on the functions and structure of salivary glands.

**Aims**

Investigating the alterations occurred with both : proliferation index Ki67 and vascular endothelial growth factor VEGF in the salivary glands of diabetic rabbits , and compare it with normal status .

**Materials and methods**

The study sample was composed of 40 rabbit , diabetes was induced in 20 of them using Alloxan . animals were sacrificed 6 weeks later. Parotid and sub-mandibular glands were then extracted in both groups. The glands have been sectioned then stained with VEGF and Ki67 markers . the new vasculature and the proliferative cells were counted , then a compation between the control and test groups was held using Student test and Person correlation coefficient .

## **Results :**

The results revealed a clear affection of diabetes mellitus in increasing the expression of VEGF , by about 10%  $P < 0.05$  , the newvasclature was increased about 24% ,  $P < 0.05$  . Proliferation Index Ki67 expression was increased 14% ,  $P < 0.05$ . in both investigated glands .

## **Summery**

Diabetes mellitus leads to increasing cellular proliferation ratio and inducing a new vasculature in the salivary glands of diabetic rabbits . that is may be due to the needs of glandular tissue to compensate the lake nutrition and hypoxia for the active, saliva produce salivary glands cells .

# **الباب السابع :**

## **المراجع**

## References

- . Suppl 1, S629. 2010 Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 33
- ACIKGOZ, G., DEVRIM, I. & OZDAMAR, S. 2004. Comparison of keratinocyte proliferation in diabetic and non-diabetic inflamed gingiva. *J Periodontol*, 75, 989-94.
- ADAMIS, A. P., MILLER, J. W., BERNAL, M. T., D'AMICO, D. J., FOLKMAN, J., YEO, T. K. & YEO, K. T. 1994. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*, 118, 445-50.
- AGHI, M. & CHIOCCA, E. A. 2005. Contribution of bone marrow-derived cells to blood vessels in ischemic tissues and tumors. *Mol Ther*, 12, 994-1005.
- AIELLO, L. P., AVERY, R. L., ARRIGG, P. G., KEYT, B. A., JAMPEL, H. D., SHAH, S. T., PASQUALE, L. R., THIEME, H., IWAMOTO, M. A., PARK, J. E. & ET AL. 1994. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med*, 331, 1480-7.
- AL-SAFFAR, F. & SIMAWY, M. 2014. Histomorphological and histochemical study of the major salivary glands of adult local rabbits. *International Journal*, 2, 378-402.
- ALBERTI, G., ZIMMET, P., SHAW, J., BLOOMGARDEN, Z., KAUFMAN, F. & SILINK, M. 2004. Type 2 diabetes in the young: the evolving epidemic: the international diabetes federation consensus workshop. *Diabetes Care*, 27, 1798-811.
- AMANO, O., MIZOBE, K., BANDO, Y. & SAKIYAMA, K. 2012a. Anatomy and Histology of Rodent and Human Major Salivary Glands:—Overview of the Japan Salivary Gland Society-Sponsored Workshop—. *Acta histochemica et cytochemica*, 45, 241.
- AMANO, O., MIZOBE, K., BANDO, Y. & SAKIYAMA, K. 2012b. Anatomy and histology of rodent and human major salivary glands: -overview of the Japan salivary gland society-sponsored workshop. *Acta Histochem Cytochem*, 45, 241-50.
- ANDERSON, L. C. 1987. parotid gland function in streptozotocin-diabetic rats. *J Dent Res*, 66, 425-429.
- ASAHARA, T., MUROHARA, T., SULLIVAN, A., SILVER, M., VAN DER ZEE, R., LI, T., WITZENBICHLER, B., SCHATTEMAN, G. & ISNER, J. M. 1997. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 275, 964-7.

- BATTELINO, T., LIABAT, S., VEEZE, H. J., CASTANEDA, J., ARRIETA, A. & COHEN, O. 2015. Routine use of continuous glucose monitoring in 10 501 people with diabetes mellitus. *Diabet Med*.
- BEALE, T. & MADANI, G. 2006. Anatomy of the salivary glands. *Semin Ultrasound CT MR*, 27, 436-9.
- BERKOVITZ, B., HOLLAND, G. R. & MOXHAM, B. 2002. *Oral anatomy, embryology and histology*, Mosby Incorporated.
- BIENERT, A., KAMINSKA, A., OLSZEWSKI, J., GRACZ, J., GRABOWSKI, T., WOLC, A. & GRZESKOWIAK, E. 2012. Pharmacokinetics and ocular disposition of paracetamol and paracetamol glucuronide in rabbits with diabetes mellitus induced by alloxan. *Pharmacol Rep*, 64, 421-7.
- BISWAS, S. K. 2015. Soluble receptor for advanced glycation end products and insulin resistance during development of type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*, 29, 611.
- CA, S. 2005. Oral manifestations of diabetes. Home Health. *Home Health Nurse*, 23, 233-240; 241-242.
- CONDON, J., SHAW, J. E., LUCIANO, M., KYVIK, K. O., MARTIN, N. G. & DUFFY, D. L. 2008. A study of diabetes mellitus within a large sample of Australian twins. *Twin Res Hum Genet*, 11, 28-40.
- CONNOLLY, D. T., OLANDER, J. V., HEUVELMAN, D., NELSON, R., MONSELL, R., SIEGEL, N., HAYMORE, B. L., LEIMGRUBER, R. & FEDER, J. 1989. Human vascular permeability factor. Isolation from U937 cells. *J Biol Chem*, 264, 20017-24.
- COOKE DW, P. L. 2008. Type 1 diabetes mellitus in pediatrics. *Pediatr Rev*, 29, 374–384.
- COULTAS, L., CHAWENGSAKSOPHAK, K. & ROSSANT, J. 2005. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature*, 438, 937-45.
- DANAEI G, F. M., LU Y, SINGH GM, COWAN MJ, PACIOREK CJ 2011. "National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants". *lancet*, 378, 31–40.
- DAVIS, N., FORBES, B. & WYLIE-ROSETT, J. 2009. Nutritional strategies in type 2 diabetes mellitus. *Mt Sinai J Med*, 76, 257-68.
- DE VRIESE, A. S., TILTON, R. G., ELGER, M., STEPHAN, C. C., KRIZ, W. & LAMEIRE, N. H. 2001a. Antibodies against vascular endothelial growth factor improve

- early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 12, 993-1000.
- DE VRIESE, A. S., TILTON, R. G., STEPHAN, C. C. & LAMEIRE, N. H. 2001b. Vascular endothelial growth factor is essential for hyperglycemia-induced structural and functional alterations of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol*, 12, 1734-41.
- DING, D., CHONG, S., JALALUDIN, B., COMINO, E. & BAUMAN, A. E. 2015. Risk factors of incident type 2-diabetes mellitus over a 3-year follow-up: Results from a large Australian sample. *Diabetes Res Clin Pract*, 108, 306-15.
- DVORAK, H. F. 2005. Angiogenesis: update 2005. *J Thromb Haemost*, 3, 1835-42.
- EKLUND, L. & OLSEN, B. R. 2006. Tie receptors and their angiopoietin ligands are context-dependent regulators of vascular remodeling. *Exp Cell Res*, 312, 630-41.
- ELBJEIRAMI, W. M. & WEST, J. L. 2006. Angiogenesis-like activity of endothelial cells co-cultured with VEGF-producing smooth muscle cells. *Tissue Eng*, 12, 381-90.
- FERRARA, N. & DAVIS-SMYTH, T. 1997. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, 18, 4-25.
- FERRARA, N. & GERBER, H. P. 2001. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol*, 106, 148-56.
- FERRARA N, G. H.-P., LECOUTER J. 2003. The biology of VEGF and its receptors (review). *Nat Med*, 9, 669-676.
- FERRARA, N., HOUCK, K. A., JAKEMAN, L. B., WINER, J. & LEUNG, D. W. 1991. The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *J Cell Biochem*, 47, 211-8.
- FLYVBJERG, A. 2000. Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. *Diabetologia*, 43, 1205-23.
- FLYVBJERG, A., DAGNAES-HANSEN, F., DE VRIESE, A. S., SCHRIJVERS, B. F., TILTON, R. G. & RASCH, R. 2002. Amelioration of long-term renal changes in obese type 2 diabetic mice by a neutralizing vascular endothelial growth factor antibody. *Diabetes*, 51, 3090-4.
- FM, A. A. 2010. investigation of proliferative activity and distribution of myoepithelial cells in some salivary gland carcinomas 21-22.
- GALLAGHER, E. J. & LEROITH, D. 2011. Diabetes, cancer, and metformin: connections of metabolism and cell proliferation. *Ann N Y Acad Sci*, 1243, 54-68.

- GARGIULO, A., CECCARELLI, P. & PEDINI, V. 1996. The presence of granular excretory ducts in the rabbit zygomatic gland. *Anatomia, histologia, embryologia*, 25, 175-176.
- GOSIEWSKI, T., SALAMON, D., SZOPA, M., SROKA, A., MALECKI, M. T. & BULANDA, M. 2014. Quantitative evaluation of fungi of the genus *Candida* in the feces of adult patients with type 1 and 2 diabetes - a pilot study. *Gut Pathog*, 6, 43.
- GREGG, B. E., MOORE, P. C., DEMOZAY, D., HALL, B. A., LI, M., HUSAIN, A., WRIGHT, A. J., ATKINSON, M. A. & RHODES, C. J. 2012. Formation of a human beta-cell population within pancreatic islets is set early in life. *J Clin Endocrinol Metab*, 97, 3197-206.
- HANAHAN, D. & FOLKMAN, J. 1996. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86, 353-64.
- HAWINKELS, L. J., ZUIDWIJK, K., VERSPAGET, H. W., DE JONGE-MULLER, E. S., VAN DUJIN, W., FERREIRA, V., FONTIJN, R. D., DAVID, G., HOMMES, D. W., LAMERS, C. B. & SIER, C. F. 2008. VEGF release by MMP-9 mediated heparan sulphate cleavage induces colorectal cancer angiogenesis. *Eur J Cancer*, 44, 1904-13.
- HELD, P. J., PORT, F. K., WEBB, R. L., WOLFE, R. A., GARCIA, J. R., BLAGG, C. R. & AGODOA, L. Y. 1991. The United States Renal Data System's 1991 annual data report: an introduction. *Am J Kidney Dis*, 18, 1-16.
- HELLQUIST, H. B. & SKALOVA, A. 2014. *Histopathology of the Salivary Glands*, Springer.
- HIGH AS, S. J., HOPPER AH 1985. A morphometric study of submandibular salivary gland changes. *Arcb oral biol*, 30, 667-671.
- HIVERT, M. F., VASSY, J. L. & MEIGS, J. B. 2014. Susceptibility to type 2 diabetes mellitus--from genes to prevention. *Nat Rev Endocrinol*, 10, 198-205.
- HUANG, J., OU, H. Y., KARNCHANASORN, R., SAMOA, R., CHUANG, L. M., CHIU, K. C. & FENG, W. 2015. Clinical implication of fasting and post-challenged plasma glucose in diagnosis of diabetes mellitus. *Endocrine*, 48, 511-8.
- JAWED, M., SHAHID, S. M., QADER, S. A. & AZHAR, A. 2011. Dental caries in diabetes mellitus: role of salivary flow rate and minerals. *J Diabetes Complications*, 25, 183-6.
- KALLURI, R. & ZEISBERG, M. 2006. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 6, 392-401.
- KIKUMOTO, Y., SUGIYAMA, H., INOUE, T., MORINAGA, H., TAKIUE, K., KITAGAWA, M., FUKUOKA, N., SAEKI, M., MAESHIMA, Y., WANG, D. H., OGINO, K.,

- MASUOKA, N. & MAKINO, H. 2010. Sensitization to alloxan-induced diabetes and pancreatic cell apoptosis in acatalasemic mice. *Biochim Biophys Acta*, 1802, 240-6.
- KIM, M., PARK, H. J., SEOL, J. W., JANG, J. Y., CHO, Y. S., KIM, K. R., CHOI, Y., LYDON, J. P., DEMAYO, F. J., SHIBUYA, M., FERRARA, N., SUNG, H. K., NAGY, A., ALITALO, K. & KOH, G. Y. 2013. VEGF-A regulated by progesterone governs uterine angiogenesis and vascular remodelling during pregnancy. *EMBO Mol Med*, 5, 1415-30.
- KOGA, M., HIRATA, T., KASAYAMA, S., ISHIZAKA, Y. & YAMAKADO, M. 2015. Body mass index negatively regulates glycated albumin through insulin secretion in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*, 438, 19-23.
- L M TIERNEY, S. J. M., M A PAPADAKIS 2002. Current medical diagnosis & treatment. International edition. *New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill*, 1203–1215.
- LI, J. Y., YU, T., XIA, Z. S., CHEN, G. C., YUAN, Y. H., ZHONG, W., ZHAO, L. N. & CHEN, Q. K. 2014. Enhanced proliferation in colorectal epithelium of patients with type 2 diabetes correlates with beta-catenin accumulation. *J Diabetes Complications*, 28, 689-97.
- LINO CDE, S., DIOGENES, J. P., PEREIRA, B. A., FARIA, R. A., ANDRADE NETO, M., ALVES, R. S., DE QUEIROZ, M. G., DE SOUSA, F. C. & VIANA, G. S. 2004. Antidiabetic activity of Bauhinia forficata extracts in alloxan-diabetic rats. *Biol Pharm Bull*, 27, 125-7.
- LS, C. 1979. Ultrastructure studies of the rat submandibular gland in induced diabetes mellitus. *Virchows Arch*, 382.
- LUCCHESI, A. N., CASSETTARI, L. L. & SPADELLA, C. T. 2015. Alloxan-induced diabetes causes morphological and ultrastructural changes in rat liver that resemble the natural history of chronic fatty liver disease in humans. *J Diabetes Res*, 2015, 494578.
- MAILLOUX, L. 2007. "UpToDate Dialysis in diabetic nephropathy". *UpToDate*. Retrieved, 2, 22-25.
- MANAVIAT, M. R., RASHIDI, M. & MOHAMMADI, S. M. 2009. Wolfram Syndrome presenting with optic atrophy and diabetes mellitus: two case reports. *Cases J*, 2, 9355.
- MARTIN-PAGOLA, A., SISINO, G., ALLENDE, G., DOMINGUEZ-BENDALA, J., GIANANI, R., REIJONEN, H., NEPOM, G. T., RICORDI, C., RUIZ, P., SAGESHIMA, J., CIANCIO, G., BURKE, G. W. & PUGLIESE, A. 2008. Insulin protein and proliferation in ductal cells in the transplanted pancreas of

- patients with type 1 diabetes and recurrence of autoimmunity. *Diabetologia*, 51, 1803-13.
- MATSUMOTO, G., HIROHATA, R., HAYASHI, K., SUGIMOTO, Y., KOTANI, E., SHIMABUKURO, J., HIRANO, T., NAKAJIMA, Y., KAWAMATA, S. & MORI, H. 2014. Control of angiogenesis by VEGF and endostatin-encapsulated protein microcrystals and inhibition of tumor angiogenesis. *Biomaterials*, 35, 1326-33.
- MESCHER, A. L. 2013. *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas*, by Anthony L. Mescher.
- MIR, S. H. & DARZI, M. M. 2009. Histopathological abnormalities of prolonged alloxan-induced diabetes mellitus in rabbits. *Int J Exp Pathol*, 90, 66-73.
- NANCI, A. 2013. Salivary Glands. *Ten Cate's Oral Histology-Pageburst on VitalSource: Development, Structure, and Function*. 8 ed.: Elsevier Health Sciences.
- OVIDO-SOCARRAS, T., VASCONCELOS, A. C., BARBOSA, I. X., PEREIRA, N. B., CAMPOS, P. P. & ANDRADE, S. P. 2014. Diabetes alters inflammation, angiogenesis, and fibrogenesis in intraperitoneal implants in rats. *Microvasc Res*, 93, 23-9.
- PAMMER, J., WENINGER, W., MILDNER, M., BURIAN, M., WOJTA, J. & TSCHACHLER, E. 1998. Vascular endothelial growth factor is constitutively expressed in normal human salivary glands and is secreted in the saliva of healthy individuals. *J Pathol*, 186, 186-91.
- POOLE, D. 1986. Type II diabetes mellitus update: diagnosis and management. *Nurse Pract*, 11, 26, 29, 32-4 passim.
- RADDER, J. K. 1979. [Diabetes mellitus and heredity]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 123, 2069-70.
- RAFIEE, P., HEIDEMANN, J., OGAWA, H., JOHNSON, N. A., FISHER, P. J., LI, M. S., OTTERSON, M. F., JOHNSON, C. P. & BINION, D. G. 2004. Cyclosporin A differentially inhibits multiple steps in VEGF induced angiogenesis in human microvascular endothelial cells through altered intracellular signaling. *Cell Commun Signal*, 2, 3.
- RELIF, M., LEJEUNE, S., SCOTT, P. A., FOX, S., SMITH, K., LEEK, R., MOGHADDAM, A., WHITEHOUSE, R., BICKNELL, R. & HARRIS, A. L. 1997. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in

- human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer Res*, 57, 963-9.
- REUTERVING, C. O. 1987. Salivary glands in long-term alloxan-diabetic rats *Acta Pathol* 95, 131-147.
- ROSIVAL, V. 2015. [Treatment of coma in diabetic ketoacidosis]. *Med Klin Intensivmed Notfmed*, 110, 77.
- SANDBERG GE, S. H., FJELLSTROM CA, WIKBLAD KFL 2000. Type 2 diabetes and oral health: a comparison between diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract*, 50, 27-72.
- SCHOLZEN, T. & GERDES, J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*, 182, 311-22.
- SENGER, D. R., CONNOLLY, D. T., VAN DE WATER, L., FEDER, J. & DVORAK, H. F. 1990. Purification and NH<sub>2</sub>-terminal amino acid sequence of guinea pig tumor-secreted vascular permeability factor. *Cancer Res*, 50, 1774-8.
- SENGER, D. R., GALLI, S. J., DVORAK, A. M., PERRUZZI, C. A., HARVEY, V. S. & DVORAK, H. F. 1983. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*, 219, 983-5.
- SUCKOW, M. A., STEVENS, K. A. & WILSON, R. P. 2012. The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents. *American College of Laboratory Animal Medicine series*. London: Academic Press.
- VAILHE, B. & TRANQUI, L. 1996. [The role of the transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) and of vascular endothelial growth factor (VEGF) on the in vitro angiogenesis process]. *C R Acad Sci III*, 319, 1003-10.
- VAN BELLE, T. L., COPPIETERS, K. T. & VON HERRATH, M. G. 2011. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev*, 91, 79-118.
- VETTER, M. L., AMARO, A. & VOLGER, S. 2014. Nutritional management of type 2 diabetes mellitus and obesity and pharmacologic therapies to facilitate weight loss. *Postgrad Med*, 126, 139-52.
- VILSKERSTS, R., ZHARKOVA-MALKOVA, O., MEZHAPUKE, R., GRINBERGA, S., CIRULE, H. & DAMBROVA, M. 2013. Elevated vascular gamma-butyrobetaine levels attenuate the development of high glucose-induced endothelial dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 40, 518-24.
- WANG, S., XIA, T., ZHANG, Z., KONG, X., ZENG, L., MI, P. & XUE, Z. 2000. [Expression of VEGF and tumor angiogenesis in bladder cancer]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*, 38, 34-6.

- WITMER, A. N., VRENSEN, G. F., VAN NOORDEN, C. J. & SCHLINGEMANN, R. O. 2003. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res*, 22, 1-29.
- YASUDA H, K. C. 1982. Light and electron microscope changes of the exocrine pancreas in diabetic dogs. *Acta Biochim Pol*, 32, 785-788.
- YEGEN, E., AKCAY, F., YIGITOGU, M. R., CELIK, I., SUZEK, H. & ODABASIOGLU, F. 1995. Plasma atrial natriuretic peptide levels in rabbits with alloxan monohydrate-induced diabetes mellitus. *Jpn Heart J*, 36, 789-95.
- ZAMMARETTI, P. & ZISCH, A. H. 2005. Adult 'endothelial progenitor cells'. Renewing vasculature. *Int J Biochem Cell Biol*, 37, 493-503.
- ZHENG, W., SEFTOR, E. A., MEININGER, C. J., HENDRIX, M. J. & TOMANEK, R. J. 2001. Mechanisms of coronary angiogenesis in response to stretch: role of VEGF and TGF-beta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 280, H909-17.
- ZIEGELHOEFFER, T., FERNANDEZ, B., KOSTIN, S., HEIL, M., VOSWINCKEL, R., HELISCH, A. & SCHAPER, W. 2004. Bone marrow-derived cells do not incorporate into the adult growing vasculature. *Circ Res*, 94, 230-8.