



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

العلاقة بين عامل النخر الورمي الفا والبين ابيضاضي 10 6، 2، الأول الفا و بعض القيم الكيموحيوية لدى مرضى سرطان الكبد

رسالة مقدمة إلى

مجلس عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

علم الحيوان- الفلسفة الحيوانية

من قبل الطالب

مالك هادي قدوري

بكالوريوس علوم حياة 2008

جامعة بغداد

بإشراف

أ.د حميد محمود مجيد

١٤٣٨ هـ

٢٠١٦ م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿سَنُرِيهِمْ آيَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ
وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ
أَنَّهُ الْحَقُّ أَوْ لَمْ يَكُنْ بِرَبِّكَ
أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة فصلت

الآية ٥٣

إقرار المشرف

اشهد أن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (العلاقة بين عامل النخر الورمي الفا والبيتا ابيضاضى 10، 6، 2، الاول الفا و بعض القيم الكيموحيوية لدى مرضى سرطان الكبد) التي قدمها طالب الماجستير (مالك هادي قدوري محمود) قد جرت تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع :

المشرف : أ. د. حميد محمود مجيد

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ / / 2016

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :

الاسم : د. عمار احمد سلطان

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ / / 2016

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (العلاقة بين عامل النخر الورمي الفا والبيتا ابيضاضى 10، 6، 2، الاول الفا و بعض القيم الكيموحيوية لدى مرضى سرطان الكبد) التي قدمها طالب الماجستير (مالك هادي قدوري محمود) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية، وصُحِّحَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم :

اللقب العلمي :

التاريخ : / / 2016

إقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (العلاقة بين عامل النخر الورمي الفا والبيتا ابيضاضى 10، 6، 2، الاول الفا و بعض القيم الكيموحيوية لدى مرضى سرطان الكبد) التي قدمها طالب الماجستير (مالك هادي قدوري محمود) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع :

الاسم : د. محمد عبد الدايم صالح

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2016

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة، أننا اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (العلاقة بين عامل النخر الورمي الفا والبين ابيضاضي 10، 6، 2، الاول الفا و بعض القيم الكيموحيوية لدى مرضى سرطان الكبد) التي قدمها طالب الماجستير (مالك هادي قدوري محمود) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ (١٧ / ١٠ / ٢٠١٦) ونعتقد إنها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان ويتقدير (امتيـاز) .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. عباس عبود فرحان

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / /

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. مها فالح نزال

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. أسماء محمد صالح

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /

عضو اللجنة المشرف

التوقيع :

الاسم : د. حميد محمود مجيد

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : / /

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :

الاسم : د. غالب إدريس عطية

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / /

الإهداء

إلى سيد الخلق والمرسلين الحبيب المصطفى (صلى الله عليه وآله الطيبين الطاهرين) .

إلى والدي وفاء وعرفانا بالجميل

إلى والدتي (رحمها الله) منع الحب والحنان

إلى أخي الشهيد صلاح وأخواتي سندي في الحياة

إلى زوجتي وحبيتي وفاء وإخلاصاً

إلى أولادي (صلاح، محمد رضا، زهراء) قرّة عيني وثمرّة حياتي

إلى أصدقائي تقديرًا واحتراماً

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

مالك

الشكر والتقدير

بسعادة غامرة واكف مرفوعة بالدعاء شكراً لله على توفيقه إياي حين منحني عونه وفضله وإحسانه في إتمام رسالتي هذه والحمد لله الذي انعم وأتم نعمه عليّ وله الحمد حق حمده واصلي واسلم على مولانا مولى الثقلين أبي القاسم محمد "صلى الله عليه وعلى آل بيته الطيبين الطاهرين".

أتقدم بالشكر الجزيل إلى أستاذي الفاضل الاستاذ الدكتور جيد محمود مجيد على رعايته الخاصة وعلى إشرافه في كتابة رسالتي هذه من خلال تقديم العون والتوجيهات العلمية السديدة والمتابعة المستمرة إلى حين إتمام البحث .

وعرفاناً بالجميل أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة في جامعة ديالى متمثلة بالأستاذ المساعد الدكتور عامر احمد سلطان، وزملائي طلبة الدراسات العليا لما قدموه من تسهيلات لإكمال رسالتي .

كما أتقدم بالشكر والتقدير وأسمى آيات الاحترام والمحبة إلى رفيقة دربي الغالية زوجتي (هاجر عبد النبي قدوري) والتي أولتني رعاية خاصة في إتمام دراستي هذه فجزاها الله خير جزاء المحسنين. كما أتقدم بشكري وتقديري الجزيل للرعاية الأخوية للأصدقاء (غزوان مهدي، صباح سعدي، جواد عون، مصطفى فهمي).

ويستبيني عذراً كل من فاتني ذكر أسمه وأسأل الله أن يوفق الجميع .

الله أكبر
والنبي أفضل

﴿مالك﴾

الخلاصة

يعد سرطان الكبد (Hepatocellular carcinoma) هو الشكل الرئيسي من سرطان الكبد الاولى وهو واحد من السرطانات الأشد فتكاً في الانسان، ان اسباب سرطان الكبد عديدة اذ يحدث بشكل اساسي من الموت المستمر للخلايا الكبدية Hepatocyte، ارتشاح الخلايا الالتهابية الى الكبد، استمرار تعويض الخلايا التالفة، انتقال خلايا نقلية Metastasis من اعضاء اخرى مثل الثدي والقولون الى الكبد، تهدف هذه الدراسة لتحديد الدور الرئيس لاختلال التوازن بين Pro- inflammatory Th1 و Anti- inflammatory Th2 وتناول اهمية هذه النتائج في تحديد دور الحركيات الخلوية في تحفيز وتقدم المرض، أذ تعد الحركيات الخلوية من العوامل التي تساهم في تطور الكثير من الامراض ومنها السرطان، تم جمع العينات من المرضى الراقدين في مستشفى الاورام التعليمي / بغداد، و مستشفى الامل الوطني لعلاج الاورام/ بغداد، ومستشفى بغداد التعليمي قسم الجراحة، للفترة من 2015/7/25 ولغاية 2016/2/25 بواقع 5 مليلتر من الدم الوريدي وتركزت لمدة نصف ساعة للتخثر وعرضت للطرد المركزي 4000 دورة بالدقيقة لمدة 5 دقائق، تم فصل المصل وحفظ بأنابيب ابندروف بدرجة - 20 لحين اجراء الاختبار أذ قسمت مجاميع الدراسة الى اربع مجاميع، الأولى، مؤلفة من 30 شخصاً مصاب بسرطان الكبد الاولى قبل العلاج تراوحت أعمارهم بين 31-67 سنة تضمنت 21 اناثاً، 9 ذكوراً، الثانية مؤلفة من 20 شخصاً مصاباً بسرطان الكبد الثانوي قبل العلاج تراوحت اعمارهم 28- 75 سنة تضمنت 12 اناثاً، 8 ذكوراً، الثالثة تمت متابعة المجموعة الثانية بعد اخذ جرع العلاج الكيميائي، الرابعة مجموعة اصحاء مؤلفة من 20 شخصاً لا يعانون من اي امراض مزمنة تراوحت اعمارهم 28- 81 سنة تضمنت 10 اناثاً، 10 ذكوراً.

أظهرت نتائج الدراسة وجود ارتفاعٍ معنويٍّ في مستويات الحركيات الخلوية IL-1 α ، IL-2، IL-6، IL-10، TNF- α ، ووجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى احتمالية $P<0.001$ في مستوى انزيمات الكبد AST، ALT، ALP، والبليروبين الكلي، في حين وجد انخفاضٍ معنويٍّ بمستوى احتمالية $P<0.001$ في مستويات الالبومين، بين مجاميع المرضى مقارنةً بمجموعة السيطرة، بينت النتائج وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى احتمالية $P<0.05$ في مستويات انزيمات الكبد AST، ALP، ومستويات TNF- α ، وبينت الدراسة عدم وجود فروقٍ معنويةٍ في مستويات ALT، البليروبين الكلي، الالبومين، IL-1 α ، IL-2، IL-6، IL-10، بين مجموعة سرطان الكبد الاولي ومجموعة سرطان الكبد الثانوي قبل العلاج، في حين بينت النتائج عدم وجود فرقٍ معنويٍّ بمستويات IL-1 α ، IL-2، IL-6، IL-10، AST، ALT، ALP، قبل وبعد العلاج عند مجموعة سرطان الكبد الثانوي، وبينت النتائج وجود انخفاضٍ معنويٍّ بمستوى $P<0.05$ بمستويات البليروبين الكلي، والالبومين، ووجود انخفاضٍ معنويٍّ بمستوى $P<0.01$ بمستويات TNF- α قبل وبعد العلاج عند مجموعة سرطان الكبد الثانوي، هذا وبينت الدراسة وجود علاقاتٍ ترابطيةٍ ايجابية وسلبية (بيرسون) بين كل IL-1 α ، IL-2، IL-6، IL-10، TNF-a، و AST، ALP، ALT، البومين، والبليروبين، بين مجاميع المرضى، ومن جانبٍ اخر وجود علاقاتٍ ترابطيةٍ ايجابية وسلبية بين IL-1 α ، IL-2، IL-6، IL-10، TNF- α ، مع بعضها البعض بين مجاميع المرضى.

قائمة المختصرات

List of abbreviation

المختصر	المعنى
ADCC	antibody dependent cellular cytotoxicity
AFP	alpha-fetoprotein
AJCC	American joint committee on cancer
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
AP-1	activator protein 1
APC	Antigen presenting cell
APRF	Acute phase response factors
AST	Aspartate aminotransferase
Caco-2-COX-2	(programmed to overexpress COX-2
Caco-2-m	cell line is a continuous cell of heterogeneous human epithelial colorectal adenocarcinoma cells
CB	conjugated bilirubin
cccDNA	converted to covalently-closed circular DNA
CEA	Carcinoembryonic antigen
COX-2	Cyclooxygenase-2
CRP	C-reactive protein
CSIF	Human Cytokine Synthesis Inhibitory Factor
CTLs	cytotoxic T lymphocytes
D.Cs	Dendritic cells
DD	death) domain
DNA	Dioxy ribonucleic acid
EBV	Epstein-Barr virus
ECs	Endothelial cells
FCR	FC receptor
Foxp3	fork head box P3 FOX protein family
G6PDH	Glucose -6- phosphate dehydrogenase
GM- CSf	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
H2O2	Hydrogen peroxide
HBV	Hepatitis B virus
HCC	Hepatocellular carcinoma
HGF	hepatocyte growth factor
HHV-8	Human herpes virus 8
HIF-1	Hypoxia inducible factor-1

HIV	Human immunodeficiency virus
HPV	Humane papilloma virus
HSCs	Hepatic satellite cells
HSP90	Heat shock protein90
HT-29	human tissue colorectal adenocarcinoma cell line
HTLV-1	Human T-lymphotrophic virus-1
IKB	inhibitor NF-kB
IKK-B	Inhibitor kB Kinase)
IL-1 α	Interleukin – 1 alpha
IL-10	Interleukin – 10
IL-2	Interleukin – 2
IL-2R	Interleukin -2 receptor
IL-6	Interleukin – 6
INF- γ	interferon – gama
iNKT	Invariant Natural killer T. cell
JAK	Janus kinase
JNK	c-Jun N-terminal kinases
LDL	Low density lipoprotein
MHC class I	major histocompatibility complex
NF-kB	Nuclear factor kappa B transcription factor
NKC	Natural killer cell
NKTC	Natural killer T. cell
NO	Nitric oxide
NO.	Nitric oxide radicals
NSAIDs	Non- steroidal anti-inflammatory drug
O.	Oxygen radicals
OH.	Hydroxyl radicals
PAF	platelet activating factor
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PGE2	Prostaglandin
RNA	Ribonucleic acid
RoR- α	RAR-related orphan receptor alpha
ROS	Reactive oxygen species
sLe	sialyl Lewis or CA19.9
STAT3	signal transducer and activator of transcription-3
T reg	T regulatory
TAA	Tumor-Associated Antigens
TCR	T. Cell receptors
TGF	Tumor Growth Factor

TGF- β	Transforming growth factor – beta
TNF	Tumor necrosis factor
TREM-1	Triggering receptor expressed on myeloid cells 1
TSA	Tumor-Specific Antigens
UCB	unconjugated bilirubin
UDPGT	uridine diphosphate glucouridine transferase
VEGF	vascular endothelial growth factor
VLDL	Very low density lipoprotein

قائمة المحتويات

List of Contents

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة	
III	قائمة المختصرات	
VI	قائمة المحتويات	
X	قائمة الجداول	
XI	قائمة الأشكال و المخططات	
الفصل الاول : المقدمة		
1	المقدمة	1
3	الهدف من الدراسة	1.1
الصفحة	الفصل الثاني: استعراض المراجع Literature Review	ت
4	استعراض المراجع. Literature Review	2
4	الكبد Liver	1.2
5	انزيمات الكبد	2.2
5	انزيم Aspartate aminotransferase AST	1.2.2
6	انزيم Alanine aminotransferase ALT	2.2.2
7	انزيم Alkaline phosphatase (ALP)	3.2.2
8	البيلروبين Bilirubin	4.2.2
10	الالبومين Albumin	5.2.2
11	السرطان Cancer	3.2
13	الجزور الحرة ومراحل نشوء السرطان.	1.3.2
14	سرطان الكبد . (Liver cancer (Hepatocellular carcinoma)	4.2

16	Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma وبائية سرطان الكبد	1.4.2
18	Etiology مسببات المرض	2.4.2
20	Staging and Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma مرحلة وتشخيص سرطان الكبد	3.4.2
21	Cancer immunology السرطان والمناعة	5.2
25	The role cytotoxic T-cell (Tc) in response to cancer دور الخلايا التائية السمية في الاستجابة للسرطان :	1.5.2
26	Natural Killer Cells استجابة الخلايا القاتلة الطبيعية response	2.5.2
27	Macrophages استجابة الخلايا البلعمية	3.5.2
27	B Cell responses to Tumors استجابة الخلايا البائية للورم	4.5.2
28	Cytokines الحركيات الخلوية	6.2
30	Interleukin-1-alpha	1.6.2
31	Interleukin-2	2.6.2
33	Interleukin-6	3.6.2
35	Interleukin-10	4.6.2
37	TNF-a Tumor Necrosis Factor-alpha	5.6.2
الفصل الثالث : مواد وطرائق العمل		
40	مجاميع الدراسة	1.3
41	Apparatus الاجهزة	2.3
42	Laboratory Kits العدد المختبرية والمواد الكيميائية	3.3
42	Collection of blood samples جمع عينات الدم	4.3
43	Cytokine Immunoassay الفحص المناعي للحركيات الخلوية	5.3
43	kit contents محتويات العدة للحركيات الخلوية	6.3
44	Solution preparation تحضير المحاليل	7.3
46	Methods طرائق العمل	8.3
46	IL- و IL-10 و IL-6 و IL-1 α و TNF- α قياس مستوى كل من	1.8.3

	2 في المصل	
50	قياس فعالية إنزيم AST في المصل	2.8.3
52	قياس فعالية إنزيم ALT في المصل	3.8.3
54	قياس فعالية إنزيم ALP في المصل	4.8.3
56	تقدير الالبومين في مصل الدم	5.8.3
57	Total & Direct المصل والمباشر في المصل serum Bilirubin	6.8.3

الفصل الرابع : النتائج والمناقشة		
60	النتائج والمناقشة	.4
60	المتغيرات المناعية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي	1.4
60	Interleukin -1a	1.1.4
63	Interleukin -2	2.1.4
65	Interleukin -6	3.1.4
68	Interleukin -10	4.1.4
71	Tumor necrosis factor –alpha	5.1.4
73	المتغيرات الكيموحياتية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي	2.4
73	انزيم AST	1.2.4
76	انزيم ALT	2.2.4
78	انزيم ALP	3.2.4
80	البومين	4.2.4
81	البليروبين	5.2.4
84	المتغيرات الحياتية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الثانوي قبل وبعد العلاج .	3.4

84	المتغيرات المناخية	1.3.4
84	المتغيرات الكيموحيوية	2.3.4
الاستنتاجات والتوصيات		
87	الاستنتاجات	
88	التوصيات	
المصادر		
89	المصادر العربية	
90	المصادر الاجنبية	
	الخلاصة انكليزي	

قائمة الجداول
List of Tables

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
41	جدول الاجهزة المستخدمة والشركات المجهزة لها.	1.3
42	جدول العدد المختبرية والمواد الكيميائية.	2.3
51	جدول قياس انزيم AST	3.3
53	جدول قياس انزيم ALT	4.3
55	جدول قياس فعالية انزيم ALP	5.3
57	جدول قياس الالبومين	6.3
60	جدول العمر والجنس ومستويات IL-1a,IL-2,IL-6,IL-10,TNF-a في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي مقارنة بالسيطرة	1.4
61	جدول العلاقة بين المتغيرات المناعية و الكيموحيوية في مرضى سرطان الكبد	2.4
74	جدول مستويات انزيمات AST,ALT,ALP والالبومين ، والبليروبين في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي مقارنة بالسيطرة	3.4
79	جدول العلاقة بين المتغيرات الكيموحيوية في مرضى سرطان الكبد	4.4
85	جدول مستويات المتغيرات المناعية والكيموحيوية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي .	5.4

قائمة الأشكال و المخططات

List of the Figure and Schemes

الصفحة	عنوانه	رقم الشكل
5	منظر خلفي و أمامي للكبد.	1.2
48	يوضح المنحنى القياسي IL-1a	1.3
49	يوضح المنحنى القياسي IL-2	2.3
49	يوضح المنحنى القياسي IL-6	3.3
49	يوضح المنحنى القياسي IL-10	4.3
50	يوضح المنحنى القياسي TNF-a	5.3
51	يوضح المنحنى القياسي لأنزيم AST	6.3
53	يوضح المنحنى القياسي لأنزيم ALT	7.3

الفصل الاول المقدمة

المقدمة Introduction

السرطان من الامراض المعقدة الناتجة من أصابة المادة الوراثية للخلية نتيجة عوامل مسرطنه Carcinogens التي تكون متوافرة في الطعام او الماء او في الهواء، وكذلك تعد اشعة الشمس من العوامل المسرطنة التي تؤثر على الجلد نتيجة وجود الاشعة فوق البنفسجية التي تسبب سرطان الجلد، وبما ان الخلايا الطلائية تغطي الجلد والقناة التنفسية والقناة الهضمية لذلك تكون هي الاكثر تعرضاً للمواد المسرطنة، وان اكثر من 90 % من السرطان يحدث في الخلايا الطلائية، في 1996 سجلت اكثر من 10 مليون اصابة بالسرطان وسجلت 6 مليون حالة وفاة بسبب السرطان، وفي عام 2020 يتوقع ان يصل عدد الاصابات بالسرطان الى 20 مليون حالة للإصابة بالسرطان، و 12 مليون حالة وفاة (Raza and sood 2014).

ويعد سرطان الكبد هو خامس مرض شائع في العالم ، وهو ثالث مرض مسبب للوفاة في العالم ، وهو في الغالب ينتج بسبب عوامل مسرطنة Carcinogens او عوامل بايولوجية مثل التهاب الكبد الفيروسي التي جميعها تؤدي الى تشمع الكبد وبالتالي سرطان الكبد، وسرطان الكبد HCC هو خامس مرض شائع عند الرجال وثامن مرض شائع عند النساء (Raza and sood 2014)، (Gavicharla, 2012).

سرطان الكبد الأولي يسمى بثلاثة اسماء مختلفة تبعا لموقع الاصابة وذلك لكون الكبد يتكون من اكثر من نوع من الخلايا Hepatocellular Carcinoma عندما يصيب الخلايا الكبدية Hepatocyte، و cholangiohepatoma عندما يصيب خلايا القنوات الصفراوية Bile Duct cell carcinoma ، و intrahepatic bile ducts و Extrahepatic عندما

ينتشر خارج وداخل الاقنية الصفراوية، سريريا ليس هنالك اختلاف بين هذه الاسماء وهي تنتشر خلال الكبد ، وان سرطان الكبد الاولي يعدّ فريداً عند مقارنته بباقي السرطانات وذلك بسبب توزيعه في العالم، أذ يكون قليلاً جداً مقارنة مع باقي انواع السرطان، وله علاقة قوية مع حدوث تشمع الكبد، ان سرطان الكبد له نمطية مميزة عند النمو فمنه ينمو بورم مفرد ويستمر بالنمو قبل الانتشار، ومنه ينمو بشكل بقع صغيره في مناطق متعددة، ومن المهم تشخيص هذا السرطان بشكل مبكر لتحسين فرص البقاء على قيد الحياة (Gavicharla, 2012) .

يؤدي تليف الكبد الى تشمع الكبد وان 90% من حالات تشمع الكبد تتطور الى سرطان الكبد، (Shaoshan han وآخرون 2014)، ولتحسن التكهّن بالاصابة بسرطان الكبد يجب التشخيص المبكر للمرض وفي هذه الحالة تُعدّ افضل طريقة للوقاية من الاصابة بسرطان الكبد (Al-Hussain وآخرون 2014).

أظهرت الكثير من الدراسات الوبائية ان الوزن الزائد والسمنة تسبب زيادة خطورة الاصابة بالسرطان، أذ أظهرت الدراسات ان سرطان الكبد هو أكثر السرطانات تأثراً بالسمنة (من أكثر السرطانات التي تتسبب عن طريق السمنة هو سرطان الكبد)، ان دور السمنة في تطور سرطان الكبد يكون من خلال تعزيز الانتاج للحركيات الخلوية التي تعزز الورم IL-6, TNF- α التي تسبب التهاب كبدي وتحفز Oncogenic وعامل signal transducer and activator of transcription-3 STAT3 التي تؤدي الى سرطان الكبد او سرطانات اخرى (Park وآخرون 2010)، (Benbow وآخرون 2016).

يعد الكبد عضواً مشتركاً للكثير من السرطانات الانتقالية لأنه يوفر معززات نمو الاورام، أذ يوفر مكونات خلوية واخرى غير خلوية للنمو، المكونات غير الخلوية تتضمن الحركيات الخلوية

وعوامل النمو التي تتضمن (TGF- β) Transforming growth factor - beta اما المكونات الخلوية تتضمن :

Endothelial cells(ECs),Hepatic satellite cells (HSCs), lymphocytes and Kupffer cells، ان خلايا HSCs لها علاقه بارتفاع ضغط الدم وتليف الكبد وذلك لان هذه الخلايا تستطيع التأثير على الخلايا الكبدية وغير الكبدية المحيطة بها وتجعلها اكثر نموا وتوالدا (proliferation)، أذ ان العملية تبدأ بوجود خلايا ورمية نقلية Metastasis اي منتقلة من عضو معين الى الكبد قريبة من الخلايا HSCs، تكون الخلايا في هذه المرحلة خاملة أو ساكنة Quiescent HSCs، أذ تقوم الخلايا السرطانية النقلية بإنتاج مواد مثل Platelet ، TGF- β Derived Growth Factor (PDGF) التي تعمل على تنشيط خلايا HSCs التي بدورها تنتج مجموعة من الحركات الخلوية وعوامل النمو (PDGF , hepatocyte growth factor HGF, TGF , Cxcr) التي تعمل على تعزيز نمو الورم النقلي في الكبد، ومن الأسباب الاخرى لنمو الخلايا السرطانية النقلية في الكبد هو الدورة الدموية للكبد، أذ ان الكبد يتمتع بتجهيز دموي من قبل وريد وشريان، ووجود انواع مختلفة من الخلايا في الكبد، بطئ جريان الدم والتواء الاوعية الدموية فيها، وتنتج ايضا خلايا HSCs عوامل تكون الاوعية الدموية مثل VEGF , Angiopoitin -1 , Angiopoitin-2، أذ ترتبط هذه العوامل مع الخلايا البطانية Endothelial cell بمستقبلات خاصه لها على سطح الخلايا البطانية تؤدي الى نموها وتشكيل الوعاء الدموي للورم، وخلايا HSCs تستطيع كبح الاستجابة المناعية ضد الورم، أذ وجد ان تنشيط خلايا HSCs تثبط خلايا T.cell وذلك من خلال افراز مادة B7-homologal، أذ ان هذه المادة تحلل المستقبلات على سطح الخلايا التائية وتجعلها غير فعالة وتحفز الموت المبرمج للخلايا التائية، ووجد ان TGF- β التي تنتجها خلايا HSCs تمتلك نشاطاً قوياً مثبطاً للمناعة (Kang and Shah , 2011) .

أهداف الدراسة Aim of study

١- دراسة مستويات الحركات الخلوية (IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α) وعلاقتها بسرطان الكبد .

٢- دراسة مستويات بعض القيم الكيموحيوية كدلالة على وظائف الكبد في مرضى سرطان الكبد وعلاقتها بمستويات الحركات الخلوية .

٣- معرفة اختلال التوازن بين Th1 Pro- inflammatory و Anti- inflammatory Th2 .

الفصل الثاني استعراض المراجع

2. استعراض المراجع Literature Review

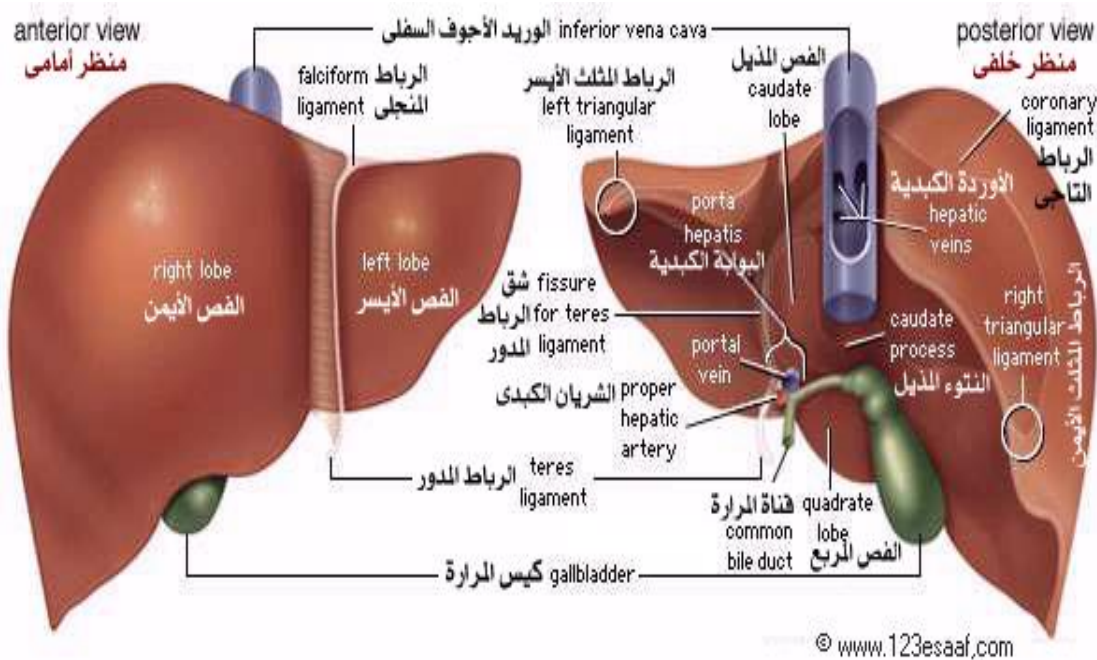
2-1: الكبد Liver

عضو غير متجانس من الناحيتين التركيبية والوظيفية، ويأتي في المرتبة الثانية بعد الدماغ من حيث التعقيد، يبلغ وزنه في الذكور 2 كغم و 1.7 كغم في الاناث، وهو اكبر غده في الجسم، ويحتل الكبد الجزء الاعلى الايمن من التجويف البطني، ينقسم الكبد الى أربعة فصوص أيمن، وأيسر، و وسطي، وذيلي، ويعد الفصين الايمن والايسر اكبر من الفصين الوسطي والذيلي، ويعد الفص الوحدة البنائية والوظيفية للكبد، يمتلك الكبد الكثير من الوظائف الحيوية التي تتضمن فعاليته او كفاءته في امتصاص و تخزين وايض الأحماض الأمينية، والكربوهيدرات، واحماض الصفراء، والكوليسترول، والبروتينات، والدهون والفيتامينات وتحرير المواد الايضية الى الصفراء أو الدم (Burt and Day، 2002)، (Abshagen وآخرون 2015).

ويعمل الكبد على تخليق بروتينات البلازما مثل الألبومين والبروتينات المهمة الاخرى ويشارك في عملية الأيض الغذائي، ويعد العضو الأساس في إزالة السموم (Allen، 2002) ، (Abshagen وآخرون 2015)، ويعد العضو الوحيد الذي يمتلك مصدرين للتدفق الدموي كما موضح في الشكل (1-1) ، ويوجد فيه 12 نوعاً من الخلايا المختلفة، إذ أن له دوراً رئيساً في التحول الاحيائي ولاسيما في جعل الجزيئات الكاره للماء ذائبة في الماء، والدفاع ضد الجزيئات الغريبة، وينظم حجم الدم (malarkey وآخرون 2005)، وينتج البروتين الشحمي منخفض

الكثافة جداً (VLDL) very low density lipoprotein (Allen 2002)، وأيضاً إنتاج إنزيمات مختلفة وتكوين مادة الصفراء وإفرازها، وهو مسؤول عن إزالة التسمم أو التخفيف من سمية بعض المواد والأدوية، وخزن البروتينات والجلايكوجين ومختلف الفيتامينات والمعادن (Podolsky ، 2001)، (Candelaria وآخرون 2016).

لذلك يمكن إيجاز أهم وظائف الكبد بالنقاط التالية: أيض الكربوهيدرات والدهون والبروتينات، تخليق البروتينات، التخثر، إنتاج اليوريا، إزالة السموم، إزالة البليروبين، إنتاج عصارة الصفراء، أيض الهرمونات، خزن وأيض الفيتامينات والحديد، المناعة، إنتاج احتياطي الدم واللف (Salem ، 2009) .



شكل (1-1) منظر خلفي و أمامي للكبد.

2-2: أنزيمات الكبد

يمتلك الكبد مجموعة من الأنزيمات تعرف بوصفها ناقلة لمجموعة الأمين، إذ تشمل

(AST) و (ALT) ، التي تتحرر عندما يحصل تحطم في الكبد (Simon ، 2003) ومنها:

2-2-1: أنزيم (GOT) (AST) Aspartate aminotransferase

كان يعرف سابقاً بإنزيم Glutamate oxaloacetate transferase or transaminase الذي يرمز له (GOT) ، وهو يحمل الرقم 2 ضمن تصنيف الأنزيمات (Enzyme Commission)، وينتمي الى مجموعة الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين (Huang وآخرون 2006).

يعد إنزيم AST من الإنزيمات الواسعة الانتشار في أنسجة الجسم المختلفة و يتركز وجوده بصورة رئيسة في عضلة القلب، و في الكبد والعضلات الهيكلية والكلية وبتراكيز أقل في أعضاء أخرى مثل البنكرياس، والطحال، والرئة، وكريات الدم الحمراء (Kaplan وآخرون 2003؛ Daze ، 2007). ويتواجد أنزيم AST في مايتوكوندريا الخلايا البرنكيمياة للكبد، إن نظير الانزيم AST الموجود في الساييتوبلازم موجود في المايتوكوندريا، ويرتبط بحالات الجروح الخفيفة التي تحصل للأنسجة، والشكل الغالب للأنزيم في المصل هو من الساييتوبلازم، ففي حالات تحطم الانسجة نتيجة الإصابة الحادة تتحرر كميات كبيرة من الانزيم من المايتوكوندريا (2014 , Madhuri and Viveka).

2-2-2: أنزيم (GPT) (ALT) Alanine aminotransferase

كان يعرف قديماً بأنزيم Glutamate Pyruvate Transaminase ويرمز له (GPT) وهو من الأنزيمات الناقلة التي تحمل الرقم 2 ضمن تصنيف الأنزيمات (Yang وآخرون 2009)، يحفز هذا الإنزيم التحول الداخلي من الأحماض الامينية والحامض a-glutarate بواسطة نقل مجاميع الأمين (David and Michael ، 2000)، يعد أنزيم ALT وسيطاً مهماً في أيض

الكلوكوز والبروتين، فيحفز تفاعلاً معكوساً بين alanine و oxoglutarate - 2، لتكوين pyruvate و glutamate (Ruhl and Everhart ، 2009).

يتواجد الإنزيم في أنسجة مختلفة من جسم الإنسان، ولكن يكثر تواجده في الكبد، وعند إصابة خلايا الكبد بالضرر فإن ذلك يؤدي إلى تحرر ALT بكثرة إلى الدورة الدموية، فضلاً عن الكبد فإنه يتوزع في أنسجة أخرى إذ يتواجد بنسبة قليلة في الكلية، والقلب، وخلايا العضلة الهيكلية (Al-Shammaa وآخرون 2011).

لأنزيم ALT أهمية في تشخيص إصابة الكبد أكثر من أنزيم AST بوصفه عاملاً دالاً على تراكم دهون الكبد fatty liver، كما ثبت اعتباره مؤشراً للإصابة بداء السكري من النوع الثاني غير المعتمد على الأنسولين، إذ يترافق انخفاض مستوى الإنزيم مع الزيادة في مستويات الكوليسترول الملاحظة في حالات احتقان الكبد Congested liver كذلك نلاحظ زيادة مستوياته في حالات إصابة الكلى وتحطم الكبد واحتشاء العضلة القلبية (Vozarova وآخرون 2002)، وتزداد فعاليته في حالات التهاب الكبد مثل التهاب الكبد الحاد Acute hepatitis، والمزمن Chronic hepatitis، وتشمع الكبد liver cirrhosis، والارتشاح الدهني Fatty infiltration فضلاً عن أمراض الصفراء (Kaplan وآخرون 2003)، وترتفع نسبته عند استخدام بعض الأدوية أو خلال ممارسة التمارين الرياضية (Hall and Cash ، 2012).

2-2-3: أنزيم (ALP) Alkaline phosphatase

يعرف أيضاً Orthophosphoric monoester phosphohydrolase (Martins وآخرون 2001)، ينتمي لصنف الانزيمات التي تحلل مائياً Hydrolysis، يحلل مائياً الاواصر الأستيرية في الأسترات احادية الفوسفات من الجزيئات العضوية DNA، RNA والبروتينات، واسترات الفوسفات، وانهيدريدات حامض الفوسفوريك، فيحرر الفوسفات غير

العضوي Inorganic phosphate، والكحول أو الفينول، أو السكر، عند اس هيدروجيني قلوي، يعمل هذا الانزيم من خلال عملية شطر splitting الفسفور ليكون الاس الهيدروجيني القاعدي للدم، ويتغير الاس الهيدروجيني للأنزيم بحسب نوع مادة التفاعل وتركيزها (Dhakad وآخرون 2005)، (Gong وآخرون 2005).

يتواجد هذا الانزيم في جميع انسجة الجسم مثل الخلايا الكبدية ، والخلايا الطلائية لقناة الصفراء ، والامعاء ، والمشيمة وتكوين العظام (أرومات العظام) Osteoblasts ، أيضا يوجد في الكلية ولاسيما في الانابيب الملتوية القريبة وكذلك في غدد اللبائن (jimmy وآخرون 2013) .

ويأتي القسم الاكبر من الانزيم الموجود في الدم من النسيجين العظمي والكبدى ولهذا فإن ارتفاع نشاط هذا الانزيم غالباً ما يرجع الى مرض احد هذين النسيجين (Bishop وآخرون 2005)، (Al-Hamadan, 2010) .

كما يلاحظ ارتفاعه في أمراض الكبد ، والصفراء مثل اليرقان الإنسدادي وسرطان العظام و تزداد فعالية هذا الانزيم عند زيادة افرازه من قبل المشيمة (Dajani وآخرون 2011)، وفي سرطان العظام، والكبد، والبنكرياس، والبروستات، وبقية الأنسجة الاخرى، وتقل فعالية الانزيم عن الحد الطبيعي في حالات التهاب الكلية المزمن، ونقص فيتامين C، وقلة افراز الغدة جنيب الدرقية Hypoparathyroidism (Al-Khayat وآخرون 2001)، ولم تعرف وظيفته في الأنسجة الأخرى، تستخدم مستويات الانزيم في الكبد والعظام على نطاق واسع في تشخيص أمراض الكبد، والصفراء، واضطرابات العظام المختلفة (Ali وآخرون 200)، (Turan وآخرون 2011).

4-2-2 البيلروبين Bilirubin

البيليروبين هو صبغة صفراء تذوب في الدهون، ويكون على ثلاث صور، البيليروبين المرتبط، وغير المرتبط، ومجموعها يسمى البيليروبين الكلي، ان تحطم خضاب الدم Hemoglobin بعد تكسر خلايا الدم الحمراء وانتهاء فترة حياتها يتحلل خضاب الدم الى بروتين globin الذي يتم تحلله الى الحوامض الامينية الاساسية ويتم استخدامها مرة اخرى، اما الهيم heam يتحول الى حديد وبلفيردين biliverdin بواسطة انزيم hemoxy genase، ويتحول biliverdin الى unconjugated bilirubin UCB ، (Fischbach and Dunning واخرون 2008)، وهناك عوامل داخلية وخارجية تعمل على زيادة مستوى البيليروبين غير المرتبط مثل الادوية ونقص انزيم G6PDH وكذلك نقص الالبومين الذي يرتبط بالبيليروبين، ان البيليروبين الحر غير المرتبط له القدرة على اختراق او عبور غشاء الخلية الدهني المغلفة للأعصاب فيسبب التسمم العصبي neurotoxicity، يتجه البيليروبين غير المرتبط الى الكبد و يرتبط مع حامض الكلوكونيك Glucuronic acid في الكبد بواسطة الانزيمات الناقلة (uridine diphosphate glucouridine transferase (UDPGT)، وتحولها الى الشكل غير السام وهو الشكل المرتبط الذي يسمى بالبيليروبين المباشر ليتحول الى ثنائي كروونات البيليروبين Bilirubin Diglucuronide القابل للذوبان في الماء ثم يخرج من الكبد الى القنوات الصفراوية ومنها الى القناة الهضمية ثم الى الخارج، ترتفع مستويات البيليروبين في امراض الكبد، انسداد القنوات الصفراوية، وعند زيادة تكسر خلايا الدم الحمراء (Fischbach and Dunning واخرون 2008)، (Kuntiz and Kuntiz 2006).

يتحلل البيليروبين المرتبط CB في اللفائفي والقولون بواسطة glucuronidase الى UCB البعض منه يعاد امتصاصه من قبل الامعاء، وبعد الاجتياز للدورة الكبدية يتحول الى

urobilinogens الذي يتحول الى urobilins and stercobilin (Dennerly واخرون2001).

ان زيادة البليروبين الكلي في المصل يدل على خلل في الوظيفة الاخراجية للكبد وخلل في ربط البليروبين مع glucoronate بسبب الضرر الحاصل في الخلايا الكبدية، وهذا الضرر يؤدي الى تسرب البليروبين الى جهاز الدوران (2005, Waetzig and Herdegen).

5-2-2 الألبومين Albumin

الالبومين نوع من بروتينات بلازما الدم يقوم بدور هام في تنظيم الضغط الاوزموزي، يساعد في نقل البليروبين والكالسيوم والبروجسترون، تصنف بروتينات البلازما على أساس موقعها من الترحيل الكهربائي، ويمكن تصنيفها بحسب تفاعلات كيميائية وفيزيائية إلى ثلاث مجموعات عريضة وهي الالبومينات، والغلوبولينات والتي تمتلك الكثير من الوظائف المتداخلة، ومولد أليفين الفيبرينوجين Fibrinogen المسؤول عن تخثر الدم (2001, Vander).

يحتل الألبومين 58 % من بروتينات البلازما، وهو مهم في تنظيم حركة الماء بين الأنسجة والدم، أذ يساهم في تكوين الضغط الأزموزي المهم في إعادة امتصاص المواد والسوائل من السائل النسيجي الى الوعاء الدموي (2000, Geveart and Vandekerchohove).

هنالك جزيئات أخرى، مثل الأحماض الدهنية، البليروبين، وهرمونات الدرقية، تنقل عبر الدم ملتصقة إلى الألبومين، وتتمثل وظائف البروتينات بتوفير مذابات غير نافذة للبلازما، تعمل بوصفها دارئ، ترتبط وتنقل مكونات البلازما الأخرى (الدهون، والهرمونات، والفيتامينات، والمعادن، وعوامل التخثر، والضدات (الغلوبولينات المناعية) (2006, Williamson)، (Andreoli واخرون2004)، ان البروستوكلاندين E2, PGE2 يكون له تأثير كابح للمناعة، من جانب اخر ان الالبومين يرتبط مع البروستوكلاندين فيثبط عملها، لذا ان انخفاض مستويات

الالبومين في مصل مرضى سرطان الكبد يسبب حرية دوران البروستوكلاندين في المجرى الدموي فيسبب الكبح المناعي الذي يكون تأثيره سلبي على فعالية الجهاز المناعي مما يسبب تقاوم للمرض (China وآخرون 2016).

Human Cancer

3-2 السرطان

يعد مرض السرطان من الامراض التي وصفت منذ القدم، أذ ان اول من اكتشفه هم المصريون ووصفوا له علاجاً بالاستئصال الجراحي او الكي بالنار، وكذلك وصف ابن سينا الكثير من طرق الاستئصال الجراحي للورم في القرن العاشر الميلادي ، وتمكن بعده العلماء من تحديد مسببات المرض منها بيئية ، وفردية، ووراثية، في عام 1878م كان متوسط نسبة الشفاء من المرض 5% ، ثم ارتفعت هذه النسبة الى 20% في عام 1930م، ووصلت نسبة الشفاء في الوقت الحالي الى 50% ، وهذا يعتمد على نوع الورم ومرحلته (موخيرجي،2013).

ويعرف السرطان بأنه ورم منه خبيث ومنه حميد، يتمثل الورم الخبيث بكتلة نسيجية شاذة لا يتناسق نموها مع نمو الانسجة الطبيعية، او تتميز هذه الكتلة النسيجية بتجاوزها حدود النمو الطبيعي ولا يتوقف نموها بانقطاع المسبب لذلك النمو (Damianki وآخرون 2000) و (موخيرجي،2013) .

ان مجموعة الخلايا السرطانية هي مجموعة خلايا غير متجانسة تعود الى انواع مختلفة من الخلايا التي تفرز جزيئات تشجع او تعرقل نمو الورم، والورم يحتاج لعدة عوامل للنمو منها :

تجنب الجهاز المناعي، تجنب الموت المبرمج، تكوين الاوعية الدموية التي تغذي الورم من خلال افراز حركات خلوية خاصة (Burkholder وآخرون 2014).

أكتشف العلماء في ١٩٧٠ عائلتين من الجينات مسؤوله عن نمو السرطان وهي :

١- **Oncogenes** : وهي الجينات الورمية التي تجعل نمو الخلايا خارج عن السيطرة في

حال حدوث طفرة في هذه الجينات، وتدعى هذه الجينات في الخلية Proto oncogene

وتسيطر هذه الجينات غالبا على التحفيز على انقسام الخلية .

٢- **Tumor suppressor genes** : الجينات الكابحة للورم وهي تسيطر على انقسام

الخلية وتعمل على اصلاح الاخطاء في DNA وتخير الخلية متى تموت والدخول في

مرحلة apoptosis or programmed cell death لذا عندما تكون الجينات الكابحة

للورم لا تعمل بصورة دقيقة فأن الخلية سوف تنمو بشكل خارج عن السيطرة الذي يقود

الى السرطان، و لتأكيد هذه المعلومات قام العلماء بتعطيل جينات oncogenes and

tumor suppressor genes باستخدام مواد كيميائية او بالإشعاع، فقد ذلك التعطيل

الى حدوث السرطان بشكل سريع ومباشر، أن الورم الناشئ ليس بالضرورة ان يكون

خبيثا ممكن ان يكون من الاورام الحميدة ، لذا يحتاج الورم بعض التغيرات حتى يتحول

من ورم حميد الى ورم خبيث ويكون هذا الورم الخبيث في بدايته متموضع في مكانة،

ومع مرور الوقت وحسب شدته يبدأ بالانتشار والتوسع والانتقال الى مناطق بعيدة معطيا

الاورام الثانوية التي حين وجودها يعني التقدم في مرحلة الورم وصعوبة العلاج (Kilian

وآخرون 2003)، (American cancer society, 2014)

الأورام النقلية metastases هي الانتشار والنمو للورم في موقع ثانوي غير موقع النمو الأولي الذي نشأ منه الورم، وأن أغلب السرطانات لها علاقة مع الأورام النقلية، وتسبب الأورام النقلية الموت أكثر من الأورام الأولية، من الواضح أن مصدر الورم النقلي له أهمية رئيسة في إعطاء الاستراتيجية الصحيحة لعلاج مرضى السرطان ومنع انتشار السرطان إلى مواقع أخرى، وأن انتقال الأورام يكون من خلال مرحلتين :

١- الغزو خارج خلوي invasion of the extracellular matrix

٢- الغزو الوعائي (دخول الخلايا الورمية إلى داخل الوعاء الدموي والانتقال إلى أماكن

أخرى) (Vinay Kumar وآخرون 2005).

وقد يحدث تحول للورم الحميد أحيانا إلى ورم خبيث نتيجة لحدوث تغير نوعي غير عكسي مستمر Irreversible change في صفة أو أكثر من صفات الورم (Assiri وآخرون 2003).

وتجدر الإشارة إلى أن السرطان ينجم في كل الحالات عن الطفرة Mutation ولكن ليس كل الطفرات تحدث السرطان، أن السرطان ينتج عن تفعيل غير طبيعي Abnormal activation للجينات الخلوية التي تنظم نمو الخلايا وانقساماتها، وأن تحديد مرحلة الورم تعبر عن مدى تقدم الورم واستفحاله ويعد ضرورياً قبل البدء بالعلاج، (Srivastava, 2015).

أن بروتينات الصدمة الحرارية Heat shock protein (HSP90) المعزولة من الخلايا السرطانية لها القدرة على أحداث تمنيع ضد السرطان، وذلك كون هذه البروتينات تحمل في طبيعتها مستضدات تمثل مستضد للخلايا السرطانية القادمة منها، ولها القدرة على تفعيل الجهاز المناعي، إذ عند دخول هذه البروتينات إلى الجسم ترتبط بها الخلايا العارضة للمستضد Antigen presenting cell (APC) من خلال مستقبل CD91 ليتم عرض HSP90 على

سطحها، ترتبط الخلايا التائية مع الخلايا APC وتبدء بالتكاثر وتقضي على الخلايا السرطانية، من جانب اخر ان HSP90 المعزولة من الخلايا الطبيعية ليس لها القدرة على احداث تفاعل مناعي، وعند تثبيط تخليق HSP90 يجعل الخلايا اكثر حساسية لحالات التأكسد ويجعل موتها بسهولة اكثر عند تعرضها للعلاج الكيميائي (Proia and Gunnar، 2015).

2-3-1 الجذور الحرة ومراحل نشوء السرطان

هناك علاقة بين الجذور الحرة ونشوء السرطان تكون هذه الجذور عالية التفاعل، ويظهر الخطر الرئيس من خلال الضرر الذي تحدثه الجذور الحرة عندما تتفاعل مع المكونات الخلوية المهمة مثل غشاء الخلية، فيؤدي الى خلل وظيفي او الموت المبرمج (Lamina) واخرون (2013)، تهاجم الجذور الحرة مكونات الخلية مثل DNA، البروتينات، والأغشية الخلوية وتتسبب جهداً تأكسدياً oxidative stress (Srinivasan واخرون 2006)، ينتج عنه الإصابة بالسرطان مثل (الرئة، والبنكرياس، والثدي، والكبد، والمثانة، والفم، والحنجرة، والمعدة والكلية)، والتقرحات المعدية، والقصور الجنسي للذكر male impotence بالإضافة الى سمية الخلايا الكبدية (McBride، 1992؛ Sherman، 1991)، وقد اشارت احدى الدراسات الى ان جزيئة الاوكسجين المفرد (الجذور الحرة الأوكسجينية) تؤدي دوراً في اكسدة الدهون والبروتين والاحماض النووية محدثة بذلك الطفرات الوراثية التي تؤدي الى ظهور الاورام السرطانية (Sharma واخرون 2004).

2-4 سرطان الكبد (Liver cancer Hepatocellular carcinoma (HCC)

ان سرطان الكبد هو مشكلة صحية عالمية مع خيارات علاج محدودة جداً، ان الالتهابات المزمنة لها علاقة قوية في احداث الاصابات الكبدية التي تؤدي الى تجدد خلايا الكبد باستمرار

وبالتالي ممكن ان يؤدي الى تليف الكبد ثم تشمع الكبد وبالتالي حدوث سرطان الكبد (Lin واخرون 2016).

ذكر (Hernandez-gea واخرون 2013)، ان سرطان الكبد هو ثالث انواع السرطانات انتشارا في العالم بعد سرطان الرئة والمعدة مع 750000 حالة تشخيص جديدة كل سنة ، بينما ذكر كل من (Hammam واخرون 2013)، (Ladep واخرون 2014)، (Ikeda واخرون 2015)، ان سرطان الكبد الاولي هو خامس انواع السرطان انتشارا وثالث سبب للوفاة ، بينما ذكر (Cotterell and Fisher ، 2015)، (Reeves واخرون 2016) ، ان سرطان الكبد هو ثاني سبب للوفاة .

ان سرطان الكبد الاولي مرض تنمو فيه الخلايا السرطانية في الكبد من الخلايا الكبدية نفسها، طبيعيا تستطيع خلايا الكبد الانقسام بشكل منتظم، أما في حالة الاستمرار بالانقسام غير المنتظم سوف يؤدي الى أنتاج خلايا لا يحتاجها النسيج مما يؤدي الى زيادة كتلة نسيج الكبد التي تدعى في هذه الحالة الورم tumor، وممكن ان يكون هذا الورم في الكبد في حالتين الحالة الاولى أولي Primary liver cancer أي يكون اول نشوئه في الكبد وفي نفس الوقت ممكن ان يكون حميد (غير قادر على الانتشار الى أماكن أخرى من الجسم) أو يكون خبيثاً (قابل للانتشار الى أماكن أخرى من الجسم) أما في الحالة الثانية يكون ثانوي secondary liver cancer أي ينشئ الورم في أماكن أخرى من الجسم ثم ينتقل الى الكبد وهو في هذه الحالة يكون خبيثاً فقط أي منتشر لأي عضو في الجسم، ان الكبد يحتوي على عدد كبير من انواع الخلايا المختلفة مثل Hepatocytes ، Endothelial Cells ، Kupffer Cells ، Hepatic Stellate ، التي جميعا تؤدي الى انواع مختلفة من السرطان في الكبد، لذا يكون الكبد اكثر عرضة للإصابة بالسرطان من غيره من الاعضاء (2007, Larusso) .

ان الاورام في الكبد تمتلك اوعية دموية كثيرة الا انها غير طبيعية وظيفيا ومن ثم حدوث نقص في الاوكسجين للورم Hypoxia خلال مرحلة النمو، عند حدوث نقص الاوكسجين للورم تتحفز خلايا الورم للتعبير عن (HIF-1) Hypoxia inducible factor-1 الذي يتم التعبير عنه من قبل الكثير من الجينات، الذي يكون له عدة ادوار فعالة في تكوين اوعية دموية جديدة للورم، والهروب من المناعة، والمساعدة في انتقال الخلايا الورم الى اماكن اخرى من الجسم، لذا يعتبر نقص الاوكسجين يحفز تطور وتقدم الورم (Hernandez-gea واخرون 2013).

أن إصابة الكبد بالسرطان من الاورام الثانوية (الانتشارية) اكثر انتشاراً، وذلك لعدد من الاسباب وهي ان الكبد ذات تجهيز دموي كبير وهو العضو الوحيد الذي يجهز بمدخلين دمويين وحكم عمله بتخليص الجسم من السموم وكذلك هو اقرب عضو للأعضاء الموجودة في حالة الإصابة لهذه الاعضاء بالسرطان، ان HCC هو عادة صامت لا يكتشف مبكرا وهذا سبب خطورته، أن الكشف المبكر يؤدي الى فرصة كبيرة للشفاء وأن الكشف المتأخر له تكون نسبة الشفاء منخفضه جدا والنتيجة النهائية هي الموت ويمتلك HCC نمط نمو مختلف وفريد بحيث ينمو بورم منفرد ويكبر قبل ان ينتشر الى أماكن مختلفة من الجسم (Gavicharla 2012).

ان الالتهابات المزمنة، والسموم، والايض، يقود الى التهابات مستمره في الكبد، وهذا الضرر المزمن والالتهابات في الكبد تسهم في تسرطن الكبد، وتفعّل myofibroblast التي تؤدي الى تليف الكبد ثم تشمعه ومن ثم تسرطن الكبد (Zhang and scott, 2012).

ان تسلسل الجينوم يشير الى انه يجب توفر على الاقل خمسة تغيرات جينية فيه لكي تتطور الخلية الى خلية سرطانية (Guobin He, 2013)، وبعد تطور سرطان الكبد نتيجة اختلافات جينية، وطفرات جينية، وتغيرات كروموسومية (Carlioni واخرون 2014).

ان طفرات الجين b-Catenin gene هي واحده من اكثر التغيرات التي تصيب الجينات السرطانية في الكبد oncogenic gene بحيث تكون نسبتها من 10-40 % في سرطان الكبد،

بينما الطفرات تكون بحدود 10% في جين AXIN-1 في سرطان الكبد، وتكون اغلب طفرات b-Catenin gene في منطقة AXON-3 التي تحتوي على مواقع الفسفرة phosphorylation sites ، هذه الطفرات ناتجة بسبب طفرات في p53 الذي يوجد بشكله الطافر في كل سرطانات الكبد (Okabe,2014).

1-4-2 وبائية سرطان الكبد Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma

يختلف توزيع الإصابة بسرطان الكبد حسب التوزيع الجغرافي، بصورة عامة هناك ثلاث مناطق تحتل أعلى نسب الإصابة وهي آسيا وجنوب افريقيا، إذ تبلغ نسبة الإصابة 100 إصابة بين كل 100000 فرد، ودول البحر الابيض المتوسط مثل ايطاليا، اسبانيا، اليونان، تكون المعدلات متوسطة تتراوح من 10 - 20 إصابة لكل 100000 فرد، وأمريكا الشمالية والجنوبية تكون نسبة الإصابة منخفضة نسبياً، إذ تبلغ 5 إصابات لكل 100000 فرد، ان عامل الخطر الرئيس للإصابة بسرطان الكبد يكون ناتج من تليف الكبد، ان 80 - 90 % من حالات تليف الكبد تنتهي بالإصابة بسرطان الكبد، وينتج تليف الكبد من الكثير من العوامل منها فيروسية، الالتهابات المزمنة، ادمان الكحول، التعرض للإشعاع (Cardin وآخرون 2014).

اما في العراق يعتبر السرطان السبب الثاني للوفاة بعد امراض القلب والالوعية الدموية حسب التسجيل السرطاني لوزارة الصحة العراقية (وزارة الصحة العراقية/ التسجيل السرطاني 2011). هناك الكثير من العوامل التي تساهم في وبائية سرطان الكبد ومنها العمر، الجنس، العرق، وهذه العوامل تصنف على انها العوامل الاولى المسببة HCC، ان أعلى الاصابات بسرطان الكبد وجدت في الشعوب الاسيوية، ووجد ان نسبة الإصابة بسرطان الكبد زادت في الولايات المتحدة الامريكية ما بين عامين 1985 و 2002، لذا عند مقارنة أعداد الاصابات بين العرق (بين أمريكا وآسيا) أن آسيا عرضة للإصابة HCC بضعف مرتين من أمريكا، هذه الاحصائية مكنت من بلوغ عوامل الخطورة وتصنيفها بشكل جيد، ان العمر هو من عوامل الوبائية المرتبطة

بالإصابة HCC حيث وجد ان الإصابة HCC عند الرجال اقل بخمس سنوات عند مقارنتها بالنساء، اما الجنس يكون الجنس ذات تأثير عالي لحدوث الإصابة HCC بنسب عالية، اذ وجد ان نسبة أصابة الذكور أعلى بمقدار 2 الى 4 أضعاف من الإصابة HCC في الاناث وهذا يعد ثاني أكبر مسبب للإصابة HCC، و أظهرت الدراسات ان المستويات العالية للهرمونات عند الذكور androgenic hormones ربما تكون سبباً رئيساً للإصابة بسرطان الكبد عند الذكور، وأظهرت دراسات ان الادمان على الكحول والتدخين له أثر كبير في حدوث سرطان الكبد واختلفت هذه النسبة بين المجتمع الاوربي، ان ألتهاب الكبد الفيروسي نوع HCV و HBV هما من اكثر العوامل المسببة لسرطان الكبد، مع وجود تفاوت من مكان الى اخر، مثلاً عالمياً في اغلب الدول يكون العامل السائد للإصابة بسرطان الكبد هو التهاب الكبد الفيروسي من نوع HBV، بينما في اليابان يكون العامل السائد للإصابة بسرطان الكبد هو التهاب الكبد الفيروسي من نوع HCV (2012, Gavicharla).

2-4-2 مسببات المرض Etiology

هناك الكثير من المسببات لسرطان الكبد منها مواد كيميائية مثل aflatoxins or carcinogens in herbal medicines, nitrosamines, azo compounds (aminoazotoluene, paradimethyl-aminoazobenzine” butter yellow), methyicholanthrene, acetylaminofluorene, Senecio alkaloids, and cycasin ويمكن استخدام هذه المواد في أحداث سرطان الكبد في التجارب على الحيوانات (Leong واخرون 2000).

ان عامل الخطر الرئيس المسبب لسرطان الكبد هو تشمع الكبد والتي غالبا ينتج التشمع من الإصابة الفيروسية، وكذلك تشمع الكبد ممكن ان ينتج من تناول الكحول بشكل مستمر، وهناك عوامل غير الكحول وغير الفيروسات ممكن ان تسبب سرطان الكبد مثل أمراض المناعة

الذاتية Autoimmune disease، تشمع الصفراء الاولي Primary biliary cirrhosis، تصلب الاقنية الصفراوية الاولي Primary sclerosing cholangitis، داء الصباغ الدموي hemochromatosis وهو مرض يسبب ترسب الحديد في انسجة الجسم، مرض ولسن ، $\alpha 1$ antitrypsin deficiency، الاصابة الطفيلية parasitic infections، الادوية والسموم والمواد الكيميائية، وأي من هذه العوامل تتسبب بإصابة للخلايا الكبدية، أو تقوم الخلايا الطلائية في الكبد بإنتاج الحركيات الخلوية التي تحفز الخلايا النجمية الكبدية (Hepatic stellate cell Hsc) والخلايا الليفية Fibroblasts التي تهجر ويزداد تولدها (تكاثرها) وتتمايز الى Myofibroblasts وهذه الخلايا تقوم بإفراز الحركيات الخلوية مثل TGF- β and PDGF التي من الممكن ان تزيد من تولد الخلايا الكبدية وتزيد من تشوه جينوم الخلايا الكبدية وكروموسوماتها وبالتالي ممكن ان يسبب ذلك سرطان الخلايا الكبدية HCC، في أوروبا الغربية وشمال أمريكا هناك أكثر من 70% من حالات سرطان الكبد ناتجة من التهاب الكبد الفيروسي C، ان التهاب الكبد الفيروسي B هو أيضا عامل خطورة رئيس في الاصابة بسرطان الكبد HCC (Salem, 2009)، (Cardin وآخرون 2014).

ومن اسباب الاصابة بـHCC هو السكري النوع الثاني Diabetes type-II وأمراض خزن الكلايوجين والتي تشمل type 1 and alpha-1 antitrypsin deficiency (Gavicharla, 2012).

ومن مسببات الاصابة بسرطان الكبد قد تكون نواتج الخلايا الجسمية نفسها، عند حدوث الالتهابات المزمنة تشترك في محاربتها الكثير من الخلايا المناعية وهي خلايا Macrophage، Mast cell، الخلايا الشجرية Dendritic cell، الخلايا القاتلة الطبيعية NK، التي تتجمع في الانسجة التالفة وتقوم هذه الخلايا بإطلاق الكثير من الجزيئات الحيوية مثل Chemokine

Cytokines، والجذور الحرة الأوكسجينية ROS مثل O_2 ، NO، OH، وغير الأوكسجينية H_2O_2 ، ويكون جميعها لها تأثير على DNA الخلية مما يسبب ضرراً في جينوم الخلية فيسبب السرطان (Cardin وآخرون 2014)، (Guo وآخرون 2013).

ان السمنة هي عامل خطورة التي من الممكن ان تسبب اصابات للكبد، تليف الكبد، تشمع الكبد، ومن ثم حدوث HCC، ويعتبر بروتين Tenascin-C من اهم البروتينات التي تعبر عنها الانسجة الكبدية خلال الاصابات الكبدية، ويلعب دوراً بارزاً في تليف الكبد وحدث سرطان الكبد (Benbow وآخرون 2016)، (Zhang وآخرون 2015).

3-4-2 مرحلة وتشخيص سرطان الكبد Staging and Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma

ان سرطان الخلايا الكبدية HCC يمثل 90% من سرطان الكبد الاولي، ينمو بسرعة ويكون مقاوم للعلاج الكيميائي، متوسط البقاء على قيد الحياة بعد الاصابة والتشخيص يكون اقل من 12 شهر، 10-20 % من حالات الاصابة بسرطان الكبد هي مناسبة لعملية الاستئصال الجراحي، 20-30 % من عمليات الاستئصال تبقى سليمة لمدة خمس سنوات بدون عودة المرض (Guo وآخرون 2013).

هناك طريقه طورها Okuda وآخرون، تستخدم كنظام لتشخيص مرحلة الورم، وهذا النظام يخمن حجم الورم من خلال قياس مستوى البليروبين والالبومين في المرضى، مع ذلك هذا النظام عاجز في تحديد مرحلة المرض مبكراً، وهناك الكثير من أنظمة التشخيص السريري المتبعة حالياً مثل نظام برشلونة، ان ورم سرطان الكبد HCC مصنف بواسطة (AJCC) American joint committee on cancer الى الكثير من المراحل المبنية على الوضع السريري للمريض الى

عدة مراحل :

- المرحلة I و II يظهر الورم ويكون بارز مع بعض الغزو للأوعية الدموية ويتشكل ورم مفرد الى ورم متعدد .

- المرحلة III وتكون بعدة مراحل ثانوية وهي IIIa تتشكل اورام متعددة تتجه الى زياده في الحجم، IIIb في هذه المرحلة تمتد الاورام الى الاوعية الدموية الكبدية، IIIc يصل الورم الى البريتون الحشوي visceral peritoneum .

- المرحلة IV وتكون بمرحلتين ثانويتين IVa و IVb في هذه المرحلة يتجه الورم الى الانتشار الى أماكن اخرى من الجسم، أن تأكيد pathology على الاصابة HCC يلعب دوراً مهماً في التشخيص، وطريقة الخزعة Biopsy هي الاحدث في تشخيص الورم ومرحلته (Gavicharla, 2012) .

إنّ من اهم انظمة تشخيص مرحلة الاورام هي Okuda، Cancer of the liver Italian، Japanes integrated، Chianes university prognostic index، TNM، program، staging score، Barcelona clinic liver cancer system (Knox وآخرون 2015).

5-2 السرطان والمناعة Cancer immunology

ان تنشيط الجهاز المناعي ضد السرطان يكون من خلال الجهاز المناعي المتأصل (الفطري) innate immune system المكون من الخلايا المؤثرة له والتي تتضمن natural killer cells, neutrophils, and macrophages. lymphocytes وجهاز المناعة المكتسبة Adaptive immune system الذي يعطي القدرة على توليد خلايا ذاكرة مناعية (Laheru, and Jafee, 2007)، (Sprinzl and Galle, 2014).

ان الاجسام المضادة لها دور في القضاء على بعض انواع الخلايا السرطانية، استخدمت الاجسام المضادة بنجاح لاستهداف الخلايا السرطانية، اذ ان سطوح الخلايا السرطانية تحتوي على مستقبلات FCR الخاصة بالأجسام المضادة ولاسيما IgG، ان ارتباط الاجسام المضادة مع مستقبلاتها على سطح الخلايا السرطانية يسهل من ارتباط خلايا NKTC، Macrophage ، مع الخلايا السرطانية ويسهل عملية القتل (Dilillo and Jeffrey، 2015)، ان الدور الاساسي لاستجابة الجهاز المناعي هو تدمير الخلايا غير الطبيعية من خلال استخدام Killer T cells والخلايا القاتلة الطبيعية NKC وفي بعض الاحيان تبدي الخلايا T-helper المساعدة في التخلص من الخلايا الورمية (Gerloni and Zanetti، 2005).

ان الخلايا السرطانية تعبر على سطحها مستقبلات ذائبة من نوع Ligand مثل NKG2D، تعمل هذه المستقبلات على تحفيز استجابة كاذبة للخلايا القاتلة الطبيعية (Lanier، 2015). ويوجد نوع اخر من المستقبلات على سطح الخلايا السرطانية CD1d، تتعرف على هذا المستقبل خلايا iNKT ، وتعمل على قتل الخلايا السرطانية بطريقتين، المباشرة من خلال ارتباط TCR مع CD1d ، الطريقة غير المباشرة من خلال ارتباط (iNKT) Invariant NKT cells مع D.C أذ تتحفز الخلايا الشجرية لإنتاج الحركيات الخلوية، تعمل الحركيات الخلوية على تحفيز خلايا NK لتدمير الخلايا السرطانية (McEwen-Smith وآخرون 2015).

ان المستقبلات الذائبة التي يعبر عنها من خلال الخلايا النخاعية والتي تسمى 1 Trem-1 Triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM-1)، يكون لها تأثير مباشر على خلايا سرطان الكبد فتسبب توالد للخلايا السرطانية، وتمنع الموت المبرمج لخلايا

السرطان، وتوجد علاقة ارتباط ايجابية قوية بين مستويات $TNF-\alpha$ وبين TREM-1، وتزيد مستقبلات TREM-1 مقاومة الخلايا السرطانية للعلاج الكيميائي (Duan وآخرون 2015).

ان خلايا lymphocytes ترتشح حول الورم في الكثير من انواع السرطان Tumor infiltrating lymphocytes (TIL)، (Herndez-gea وآخرون 2013)، والخلايا اللمفاوية عزلت من العديد من عينات السرطان بعد الجراحة ووجد ان أكثرها هي من نوع cytotoxic T lymphocytes (CTLs) and NK cells التي يمكن تحفيزها بالكثير من الحركات الخلوية مثل IL-2, and GM-CSf ومن ضمن TILs توجد خلايا T regulatory cells (T reg) التي تنظم تفعيل خلايا T cell، وضرورية لأدائه التحمل المناعي للمستضدات الذاتية self-antigens (Shevach, 2002)، (Mihm وآخرون 2015)

ان تحول الخلايا الطبيعية الى خلايا سرطانية يرافقه التعبير لمستضدات antigens على سطح الخلايا السرطانية وهذه المستضدات antigens غير موجودة على سطوح الخلايا الطبيعية لذا فإنّ هذه المستضدات antigens تبدي الغرابة، اي هذه الخلايا تحمل مستضدات غير ذاتية non-self لذا تعمل خلايا الجهاز المناعي على مهاجمتها من خلال الخلايا المناعية القاتلة (Anderson وآخرون 2006)، (Burkholder وآخرون 2014).

ان تراكم الطفرات يكون عشوائيا وليس متخصصاً بجينات معينة في جينوم الخلية، وبما انه يوجد تراكم للطفرات على المدى الطويل، فإنّ هذا يعطي القدرة للجهاز المناعي للتعرف على الخلايا غير الذاتية والقضاء عليها (Tannock وآخرون 2005).

تم تصنيف مستضدات الاورام على اساس التركيب الجزيئي والمصدر على الشكل التالي :

١- المستضدات المنتجة من الجينات الورمية والجينات الكابحة للورم (الطافرة)

Products of Mutated Oncogenes and Tumor Suppressor Genes

٢- المستضدات المنتجة من جينات طافرة أخرى Products of Other Mutated

. Genes

٣- التعبير المفرط للبروتينات الخلوية Over expressed or Aberrantly Expressed

.Cellular Proteins

٤- مستضدات الجنين الورمية Oncofetal Antigens مثل a-fetoprotein

ان اي بروتين ينتج من قبل الخلايا الورمية هو بروتين غير طبيعي ويعزى ذلك الى الطفرة في هذه الخلية وفي جيناتها، ويكون هذا البروتين هو من مستضدات الورم tumor antigen (Roittet واخرون 2001)، (Jie واخرون 2013)، وهناك مواد اخرى على سطح الخلايا الورمية مثل (glycolipids and glycoproteins) هي أيضا تمتلك تركيب غير طبيعي الذي يمكن ان يسبب قدح وانطلاق للاستجابة المناعية (Buban, 2004)، (Jie واخرون 2013).

بعض الاورام تستطيع التخلص أو الهروب من الجهاز المناعي، ان الخلايا السرطانية غالبا أو في كثير من الاحيان تمتلك عدداً قليلاً من جزيئة معقد التوافق النسيجي الصنف الاول MHC class I على سطحها وهذه الجزيئات تجنب الخلايا السرطانية الاكتشاف من قبل NKC and Killer T cells، وبعض الاورام تنتج وتطلق مواد تثبط الاستجابة المناعية، مثلاً تستطيع بعض الاورام افراز حركات خلوية مثل (TGF), Tumor Growth Factor الذي يعمل على تثبيط وكبح تفعيل خلايا (macrophages and lymphocytes Bukholm) واخرون 2000)، ويمكن ان يهرب الورم من خلال أنتاج الخلايا السرطانية لعوامل، تعرقل عمل

الخلايا المناعية مثل prostaglandins الذي يعمل على تنظيم سالب لخلايا NK و cytotoxic- cells (Chen وآخرون 2014).

فضلاً عن كل تلك المواد يوجد التحمل المناعي immunological tolerance الذي ربما يطور تحمل للسرطان بدلاً من حدوث استجابته ضد الورم، لذلك الجهاز المناعي لا يهاجم الورم أو الخلايا السرطانية لفترة طويلة بل يستطيع الورم أن يهرب من الجهاز المناعي (Frumento وآخرون 2006).

2-5-1 دور الخلايا التائية السمية في الاستجابة للسرطان :

The role cytotoxic T-cell (Tc) in response to cancer

الخلايا التائية السمية cytotoxic T cell تهاجم الخلية الهدف وذلك لأن الخلية التائية السمية تمتلك مستقبل على سطحها من نوع TCR/CD8 (T-cell receptor) الذي يتعرف على معقد التطابق النسيجي الصنف الأول MHC I الموجود على خلية الهدف، وبعد الارتباط يحدث موت خلية الهدف من خلال إطلاق جزيئات perforin التي تسبب تحلل أوزموزي من خلال تشكيل قنوات في الغشاء البلازمي لخلية الهدف، أو من خلال إطلاق الموت المبرمج من خلال التفاعل مع مستقبلات Fas ligand على سطح خلية الهدف (Christensen and Antoni, 2002).

وكذلك تستطيع الخلايا T-cell (T-helper) التي تحتوي على مستقبل CD4 من التعرف على جزيئة معقد التطابق النسيجي الصنف الثاني MHC II الموجود على سطح الخلية الهدف ويتم القضاء على الخلية الهدف من خلال التفاعل بين مستقبل CD4 على سطح الخلية التائية المساعدة مع MHC II الموجود على سطح الخلايا المقدمة للمستضد antigen-presenting

cells(APC) مثل dendritic cells or macrophages فتتفعل الخلية الشجرية وتقوم بإفراز lymphokines الذي بدوره يقوم بتفعيل الخلية التائية السمية أو الخلية القاتلة الطبيعية أو خلية البلعم الكبير أو الخلية البائية Tc cells, macrophages, NK cells, and B cells، وتقوم هذه الخلايا بقتل الخلية الهدف أما من خلال تحلل غشاء الخلية الهدف أو من خلال تفعيل الموت المبرمج من خلال التفاعل مع مستقبل FAS الموجود على سطح الخلية الهدف، أو تستطيع هذه الخلايا (الخلايا المقدمة للمستضد) بإفراز lymphokines مثل TNF- α الذي يعمل على القتل المباشر للخلية الورمية (Goldsby وآخرون 2000)، (Vallentin وآخرون 2015).

2-5-2 استجابة الخلايا القاتلة الطبيعية Natural Killer Cells response

الخلايا القاتلة الطبيعية NKCs تُعد الخط الدفاعي الأول في الاستجابة المناعية ضد الخلايا المصابة بالفيروسات والخلايا السرطانية، واعتبرت أول الخلايا المستجيبة في مناعة المضيف لمنع نمو الاورام المجهرية، يكون تعرف NKCs على الخلايا السرطانية ليس مقتصرًا على MHC I or II الموجود على سطوح الخلايا السرطانية إنما يتم أيضا من قبل الآتي: أن سطوح الخلايا القاتلة الطبيعية تحتوي على مستقبلات لمنطقة FC الخاصة بالأجسام المضادة antibody وتحديدًا IgG ويسمى هذا المستقبل (CD16) في المقابل ان الاجسام المضادة من نوع IgG تغلف الخلايا السرطانية، لذا يتم اتحاد الخلايا القاتلة الطبيعية مع الخلايا السرطانية من خلال تفاعل منطقة FC الخاصة IgG الموجود على سطح الخلايا السرطانية مع FC receptor(CD16) الموجود على سطح الخلايا القاتلة الطبيعية ويحدث تحلل لخلايا الورم المعتمدة في هذه الحالة على الاجسام المضادة وتسمى antibody dependent cellular

cytotoxicity (ADCC) ويكون للخلايا القاتلة الطبيعية دور مهم في المناعة ضد نمو الورم، وكذلك منع انتشار الورم (Moretta وآخرون 1998)، (Britton وآخرون 1998)، وأثبتت الدراسات ان العلاج IFN-g قاد الى زيادة في أعداد الخلايا NKCs وهذا عزز الاليات الدفاعية ضد الورم (Soygur وآخرون 1999)، (Vallentin وآخرون 2015).

3-5-2 استجابة الخلايا البلعمية Macrophages

ان تفعيل macrophages يلعب دوراً مهماً في الاستجابة المناعية للورم، وهي غالباً تشاهد متجمعة حول الورم ولها علاقه وثيقه بتراجع الورم (Al-Sarireh and Eremin, 2000)، (Tao Fu وآخرون 2014).

ونعرف جيداً ان macrophages تحتوي على سطحها MHC ، وتحتوي مستقبلات Fc receptor على سطحها أيضاً فترتبط هذه الخلايا مع الاجسام المضادة antibodies الموجودة على سطوح الخلايا السرطانية وتعمل ADCC السمية الخلوية المعتمدة على الاجسام المضادة، وفضلاً عن ذلك ان تفعيل macrophages سوف يحفزها لإفراز tumor necrosis factor (TNF- α) الذي يكون مضاد للورم فعال جداً (Parslow وآخرون 2001)، (Roitt, 2001).

كذلك ان خلايا Macrophages and neutrophils بصورة عامة هي غير سامة للخلايا السرطانية في تجارب خارج الجسم الحي *in vitro* ، يمكن تفعيل سميتها خارج الجسم الحي من خلال منتجات البكتريا (سموم البكتريا) في هذه الحالة تقوم بانتقاء الخلايا السرطانية وقتلها (McGavern and Dustin, 2009) و (Coico وآخرون 2000).

B Cell responses to Tumors

4-5-2 استجابة الخلايا البائية للورم

ان كلا الاجسام المضادة IgM and IgG لهما قدرة تمييزية عالية لخلايا الورم في التجارب المختبرية *in vitro* بوجود المتممة، إذ انتهجت الكثير من الدراسات استخدام المتممة مع الاجسام المضادة للورم في تجارب على الفأران *in vivo* ، اذ وجد انه تستطيع هذه الاجسام المضادة تمييز الكثير من خلايا leukemia and lymphoma cells وتتسبب بتراجع انتشار الورم(Loze and Thomson,2005).

من الممكن ان تعمل الاجسام المضادة عند اتصالها مع الخلايا السرطانية على فقدان خاصية الالتصاق للخلايا السرطانية وذلك لان الاجسام المضادة تشغل مواقع الالتصاق الموجودة على سطوح الخلايا السرطانية ومن ثم تقلل او تمنع الانتشار الى مواقع اخرى من الجسم (Coico وآخرون 2000)،(Vallentin وآخرون 2015).

6-2 الحركات الخلوية Cytokines

الحركات الخلوية Cytokines وهي عبارة عن مجموعة متنوعة من جزيئات الكلايكوبروتينية داخل الخلية ذات وزن جزيئي منخفض، يتراوح بين 6000-60000 دالتون ومعظمها غير مرتبطة مع بعضها البعض وراثياً وتركيبياً (Oppenheim and Ruscetti, 2001) وتفرز من الخلايا المناعية وغير المناعية، بعد تنشيط هذه الخلايا يستمر افرازها مدةً تتراوح بين عدة ساعات الى عدة ايام، وكذلك تشترك في الاستجابة الفطرية Innate immunity وكذلك المناعة المكتسبة Adaptive immunity بما في ذلك التمايز Differentiation والاستجابة الالتهابية Inflammatory response (Goldsby وآخرون 2000).

وتُفرز الحركات الخلوية استجابةً للكثير من العوامل مثل، الالتهابات، العوامل المسرطنة، الجروح الكبدية، (Gelu-Simeon and Didier وآخرون 2013).

تتبع الحركات الخلوية دورا مهما في تنظيم الاستجابة المناعية Immune response
للالتهابات الموضعية locally inflammation والالتهابات الجهازية Systemic
inflammation، اما من ناحية موقع عملها فإنها من الممكن ان تعمل على نفس الخلية
التي تقوم بإفرازها وتسمى Autocrine action، او انها تعمل على الخلايا المجاورة للخلية التي
قامت بإفرازها وتسمى Paracrine action، او قد تعمل بعيداً عن الخلايا التي قامت بإفرازها
وتسمى Endocrine action (Jayapal, 2007)، يرتبط كل حركي خلوي بمستقبل خاص
على سطح الخلية التي يعمل عليها Specific cell surface receptor، إذ تؤثر الاشارات
الداخل خلوية Intracellular signaling المنقولة بعد الارتباط على وظيفة هذه الخلايا، يكون
تنظيم افراز وعمل الحركات الخلوية من خلال ثلاثة مستويات مختلفة وهي:

افراز الحركات الخلوية Secretion of Cytokines، التعبير عن مستقبلات الحركات
الخلوية Cytokines receptor expression والاستجابة الخلوية Cellular response وقد
عرفت الحركات الخلوية في الاصل على انها بروتينات منظمة للمناعة Immune
regulatory protein، (Desai, 2007) .

تفرز الحركات الخلوية من خلال عدة مسارات من اهمها مسار NF- κ B، وحسب تأثير
البروتينات او الحركات الخلوية على مستقبل الخلية مثلا: يحفز IL-1 α تخليق IL-6 ، عندما
يرتبط IL-1 α بالمستقبل IL-1 α R الموجود على سطوح الخلايا الكبدية وخلايا Kupffer cell
يفعل مسار NF- κ B وكما يأتي : ان مسار NF- κ B هو عبارة عن عوامل استنساخ B
وهي NF(Nuclear kB (kappa B transcription factor ترتبط مع بروتينات نووية ثنائية NF
Factor) مثل P50, RelA او HSP90, Cdc37 موجوده في سيتوبلازم الخلية، يوجد NF- κ B
بصوره مثبطه ويسمى اختصارا IKB(inhibitor NF- κ B) عند ارتباط IL-1 α مع مستقبله

على سطوح خلايا الكبد السرطانية او الطبيعية او خلايا Kupffer cell يتم نقل الإشارة من غشاء الخلية الى السيتوبلازم، اذ يوجد انزيم كايينز غير الفعال IKK-B (Inhibitor kB Kinase)، وتبدء عملية تنشيط هذا الانزيم، يقوم هذا الانزيم بعد تنشيطه بعملية الفسفرة Phosphorylation للبروتينات النووية المرتبطة بعوامل النسخ (kappa B transcription factor) من خلال نزع ذرة فسفور من كل بروتين من البروتينات النووية ويتحول (IKB)inhibitor NF-kB الى NF-kB النشط الذي سوف يدخل النواة ويرتبط بالجين المشفر IL-6 على DNA ويكون معقداً يرتبط بهذا المعقد انزيم RNA polymerase وتبدأ عملية الاستنساخ لإنتاج mRNA الذي يترجم الى IL-6 الذي يعمل على تغيير وضيفة الخلية، (Remco وآخرون 2006).

تقوم الحركات الخلوية بالدرجة الأساس بتنظيم شدة ومدة الاستجابة المناعية وذلك عن طريق عدة عمليات منها: التنشيط Activation، والتضاعف أو التوالد Proliferation، والتميز differentiation لمختلف الخلايا، فضلاً عن ذلك تكون مسؤولة عن تنظيم عملية انتاج الأضداد والحركات الخلوية الأخرى، وكذلك تلعب الحركات الخلوية دوراً مهماً في التئام الجروح، ولها دوراً في تكوّن الأوعية الدموية واللمفاوية angiogenesis، وانتاج الدم hematopoiesis والكثير من العمليات الحيوية الأخرى (Oppenheim and Ruscetti, 2001).

ان الكثير من الحركات الخلوية تشارك في عملية تسرطن الخلايا Carcinogenesis وتشجع نمو وتطور للورم، وبعض من الحركات الخلوية يعمل على مهاجمة وتدمير الورم (Chen وآخرون 2014)، ويتم التعبير عن الحركات الخلوية مثل INF-g، IL-1 α ، TNF- α ، IL-6، من خلال مسار (c-Jun N-terminal kinases (JNK)، (Sook وآخرون 2016).

1-6-2 البين ابيضاضي ١ الفا Interleukin-1-alpha

IL-1 وهو من الحركيات الخلوية الواسعة الطيف، له تأثيرات متعددة وهو يتوسط العملية الالتهابية والاستجابة المناعية ويكون بشكلين هما $IL-1\alpha$ and $IL-1\beta$ ، ويمتلك مستقبل له من نوع IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) (Dinarello وآخرون 1990)، (Carter وآخرون 1990)، (Esienberg وآخرون 1990).

يعد $IL-1\alpha$ من الحركيات الخلوية التي تشترك في نمو وتطور الورم، والية التأثير على الورم غير معروفة الى الان (Lin وآخرون 2016).

أثبتت الدراسات ان $IL-1\alpha$ and $IL-1\beta$ يتوسط الاستجابة الخلوية من خلال ارتباطه بمستقبله الخاص الموجود على سطح الخلية، ويكون بنوعين هما النوع الاول Type 1 IL-1 (R) وهو موجود على سطح خلية T cells and fibroblasts ويكون وزنه الجزيئي 80 كيلو دالتون، ووجوده على هذه الخلايا ليس بصورة حصرية اي يوجد على سطح خلايا اخرى بشكل اقل، النوع الثاني (The type II IL-1 receptors) وزنه الجزيئي 68 كيلو دالتون، ويوجد على سطح خلايا B cells and neutrophils (McMahan وآخرون 1991).

أظهر (Colotta وآخرون 1993). أن (Type 1 IL-1 R) هو فقط الذي ينقل الإشارة أما (The type II IL-1 receptors) يكون غير أساسي يعمل بمثابة فخ $IL-1$ ، وبينت المعلومات المتراكمة ان $IL-1$ هو هرمون متعدد الببتيد polypeptide hormone ينتج من خلال تفعيل macrophage ووظيفته البيولوجية تبدأ من خلال تفاعله بمستقبله على سطوح الخلايا (Graves وآخرون 1990).

2-6-2 البين ابيضاضي ٢ Interleukin IL-2 :

وهو بروتين سكري Glycoprotein ينتج بصورة رئيسة من قبل خلايا T المنشطة، كما يمكن ان ينتج بالكمية نفسها من قبل خلايا B المنشطة، يعمل IL-2 على تحفيز تكاثر خلايا T وخلايا B وينشط الخلايا القاتلة الطبيعية كما يزيد من السمية الخلوية للخلايا البلعمية (Abramowicz وآخرون 2003)، (Burkholder وآخرون 2014).

IL-2 وزنه الجزيئي 15 كيلو دالتون يشفر له بواسطة جين مفرد واحد يقع على الكروموسوم الرابع 4q26-28 وهو يلعب دوراً مركزياً ورئيسياً في تحفيز وتوالد الخلايا للمفاوية ويعمل IL-2 على تطوير مستضدات IFN- γ و MHC وعلى تنشيط granulocyte-macrophage colony formation (Reviewed by Dooms and Abbas, 2010).

وتشير الدلائل الى امكانية استخدامه في معالجة بعض الامراض السرطانية من خلال زيادة السمية الخلوية للخلايا القاتلة الطبيعية وخلايا البلعم الكبير (Sell & Max 2001).

وعرف IL-2 على انه عامل نمو للخلايا التائية في تجارب المختبرية *in vitro* وكان اول الحركيات الخلوية الذي استخدم كنظام علاجي في دعم الاستجابة المناعية في المرضى الذين يعانون من السرطان المنتشر (Smith, 1988)، والاشخاص المصابين بفيروس نقص المناعة المكتسب المتقدم في البشر (HIV) (Abrams وآخرون 2009).

ان نقص IL-2 أو IL-2R أو كليهما سوف يؤدي الى احداث امراض المناعة الذاتية، يقوم IL-2 بتحفيز T.cell الى خلايا تائية سمية التي بدورها تحفز موت الخلايا (Lenardo, 1991).

وتم التأكيد على ان نقص IL-2 يسبب أمراض المناعة الذاتية في تجارب المختبرية *in vivo* على الفأران (Wolf وآخرون 2001). (Malek وآخرون 2002).

تم الاستدلال على كيفية حدوث أمراض المناعة الذاتية عند نقص IL-2 من خلال التجارب التالية :عند حقن الفأر بالأجسام المضادة anti-IL-2 سوف يؤدي ذلك الى شغل مستقبلات IL-2 من خلال تفاعل هذه الاجسام المضادة مع IL-2R ومن ثم يمنع ارتباط IL-2 مع مستقبله فيمنع تأثير هذا الحركي الخلوي على الخلايا وهذا بدوره يسبب نقصاً في خلايا T_{reg} مما يؤدي الى حدوث امراض المناعة الذاتية، إذ ان خلايا Treg هي مهمة في تنظيم عمل خلايا التائية السمية وخلايا CD4, CD25 ومنعها من مهاجمة خلايا الجسم الذاتية (O'Gorman وآخرون 2009)، (Burkholder وآخرون 2014).

ان العلاج بالجرع العالية من IL-2 في المرضى الذين يعانون من سرطان الجلد والكلية والحالب والكبد وجد هنالك زيادة في خلايا CD4,CD25 بعد العلاج وبالتالي يحفز الاستجابة المناعية ضد الخلايا السرطانية (Ahmadzadeh and Rosenberg, 2006).

3-6-2 البين ابيضاضي ٦ Interleukin-6

هو بروتين كاربوهيدراتي مفسفر Phosphorylated glycoprotein يتكون من 185 حامض اميني (Hefler وآخرون 2003) ، يتراوح وزنه الجزيئي بين (22 – 33) كيلو دالتون، يقع الجين المسؤول عن التشفير عن IL – 6 في الانسان على الكروموسوم السابع 7 Chromosome (Jayapal, 2007)، ويعتبر من الحركيات الخلوية متعدد الوظائف Multifunctional cytokines عند بدء الالتهابات، يفرز في الحالة الطبيعية بنسبة منخفضة ولكن تركيزه يرتفع اثناء العدوى Infection، والجروح Trauma، فرط الجهد Stress، وكذلك

السمنة (Obesity Kanda and Takahshi وآخرون 2004)، Stephens and (Humphries وآخرون 2003).

يفرز IL – 6 من قبل العديد من الخلايا مثل الخلايا اللمفاوية Lymphocyte الخلايا التائية T cells والخلايا البائية B cells والارومة الليفية Fibroblast والخلايا البلعمية وحيدة النوى Mononuclear phagocyte والخلايا الطلائية Endothelial cells والخلايا العدة Neutrophils والخلايا الكبدية Hepatocyte والخلايا العصبية Neurons والخلايا النجمية Astrocyte (Naka وآخرون 2002).

يعمل IL – 6 في الخلايا الهدف عن طريق الاشارات Signaling بعد ارتباطه بمستقبلاته الخاصة والتي تسمى مستقبلات IL – 6 المرتبطة Bounded والتي تتألف من وحدتين من البروتينات الكاربوهيدراتية Glycoprotein وهما الوحدة alpha (80) كيلو دالتون التي توجد خصيصا على سطوح الخلايا الكبدية Hepatocyte والخلايا وحيدة النوى Monocyte، والوحدة beta (130) كيلو دالتون التي توجد في معظم الانسجة الاخرى (Jones and Rose-John 2002; Jones وآخرون 2005)، ان سلسلتي مستقبل IL-6 الاولى 80 كيلو دالتون تحفز السلسلة الثانية للمستقبل التي تسمى gp130 التي بدورها تنقل الاشارة الى الخلية، وتعمل سلسلة gp130 بصورة مستقلة كمستقبل خاص للكثير من الحركات الخلوية مثل IL-11, IL-27 ، لذا عند اتصال IL-6 مع السلسلة 80 سوف تفعل السلسلة gp130 التي تفعل بدورها مسار Janus kinase (JAK) من خلال تنشيط انزيم Tyrosine Kinase الذي يعمل على فسفرة tyrosine وعندها سوف تتحرر Acute phase (APRF response factors) التي تعرف الان باسم STAT1 , STAT3 وهي بروتينات خاصة تعمل على تحفيز الكثير من الجينات للتعبير على بروتينات وانزيمات تحتاجها الخلية او لا

تحتاجها وبالتالي تؤثر سلباً أو إيجاباً على خلايا الجسم، (2010,Kishimoto)،
(Subramaniam وآخرون 2013)، (Siveen وآخرون 2014)، (Gao وآخرون 2012).

يشارك IL-6 أيضاً في تمايز الخلايا التائية المؤهلة مناعياً (Navie Tcell) من
خلال ارتباط IL-6 و $TGF-\beta$ مع مستقبل الخلايا المؤهلة مناعياً المسمى
(Arylhydrocarbon) فيسبب تمايزها إلى خلايا Th17، تعبر على سطحها مستقبلات
($RoR-\alpha$ و $RoR-\gamma$) RAR-related orphan receptor gamma and alpha التي
تستقبل حوامض Retinoic acid التي تشترك بانتشار الكثير من أمراض المناعة الذاتية
والسرطان، أما إذا ارتبط IL-6 و IL-2 أو IL-27 أو $INF-\gamma$ فسوف يوقف تمايز خلايا
(Navie Tcell)، أما إذا أثر $TGF-\beta$ فقط سوف تتمايز إلى خلايا Treg التي تعبر عن
بروتينات (Foxp3) (fork head box P3 FOX protein family) التي تسبب الكبح
المناعي (2010,Kishimoto)، (Taniguchi and Karin، 2014).

يشترك IL – 6 في الكثير من الوظائف البايولوجية ومن أهمها، انه يساهم في تمايز
Diffrentiation الخلايا البائية B cells وإنتاجها للكلوبيينات المناعية Immunoglobulin
production وكذلك يساهم في حث الخلايا الكبدية على إفراز بروتينات الطور الحاد Acute
phase protein ، ومن أهمها البروتين سي التفاعلي C. Reactive protein)
(Jayapal, 2007).

4-6-2 البين ابيضاضي ١٠ Interleukin – 10

أكتشف لأول مرة في 1989 يفرز بشكل رئيس من خلايا Th2 ويتصف بقدرته على
تنشيط إنتاج pro-inflammatory cytokines التي تنتج من خلايا macrophages and
T_H1 cells، ويعرف أيضاً عنه انه ذو تأثير مباشر على نمو وتطور الكثير من الخلايا، فمثلاً

يستطيع IL-10 التأثير المباشر على موت الخلايا الالتهابية من خلال تفعيل خلايا macrophages، بالمقابل IL-10 يحفز البقاء على قيد الحياة للكثير من انواع الخلايا ومن ضمنها الخلايا السرطانية من خلال اليات مختلفة (Moore وآخرون 2001).

يعرف أيضا بأنه مثبط لنمو الخلايا التائية T-cell growth inhibitory ، ، يتم ترجمة IL-10 الى جزيئة ابتدائية أولية تسمى pre-molecule التي تتكون من 178 حامض أميني ويتم معالجتها لتتحول الى الشكل الناضج المكون من 160 حامض اميني (Levens وآخرون 2000).

ان المصدر الاساسي لإنتاج IL-10 هو macrophage، ويتم تحفيز انتاج IL-10 من قبل الكثير من العوامل الخارجية والداخلية مثل السموم الداخلية endotoxins و TNF- α (Platzer وآخرون 2000).

ان الفعالية البيولوجية IL-10 هي من خلال ارتباطه بمستقبل له على سطح الخلايا وهو مستقبل نوع 2 ويكون الارتباط منخفض الالفة ومستقبل 1 يكون الارتباط فيه عالي الالفة (Walter, 2002).

يعمل IL-10 على تثبيط المناعة الخلوية وتحفيز المناعة الخلطية، وكذلك يثبط تخليق الكثير من الحركيات الخلوية مثل IFN- γ , IL-2, and TNF- α ، وله دور في تطور الالتهابات الحادة الى التهابات مزمنة (Kaur وآخرون 2009).

وقد ينتج كذلك من الخلايا البدينة Mast cell، ويعد عاملاً مثبطاً للحركيات الخلوية Anti-Pro-inflammatory cytokines لذلك يطلق عليه مصطلح العامل المثبط لبناء الحركيات الخلوية البشرية (CSIF) Human Cytokine Synthesis Inhibitory Factor (Kaplan وآخرون 2008).

له تأثيرات متعددة في التنظيم المناعي والالتهابي، إذ يعمل على كبح تنظيم Down – Regulates التعبير عن الحركات الخلوية المنتجة من خلايا Th1 وكذلك كبح تنظيم الفعالية الالتهابية لخلايا البلعم الكبير وخلايا الحمضة (Girndt & Kohler, 2003) ، و يؤدي دوراً مهماً في إيقاف التفاعلات الالتهابية (Danitowicz وآخرون 2008).

أظهرت الدراسات ارتباطه بالكثير من الأمراض وعدّ عامل خطورة لبعضها مثل الأمراض الفيروسية المزمنة (Elias and Said , 2010)، أظهرت الدراسات بأن مستويات IL-10 و IL-18 و TNF- α في المرضى المصابين بفيروس HCV كانت عالية مقارنة بالسيطرة والحاملين للمرض asymptomatic HCV carriers وان قيم هذه الحركات الخلوية تقل بعد العلاج بعقار IFN بينما تبقى قيم IL-10 مرتفعة في المرضى غير المستجيبين للعلاج (Jia وآخرون 2002).

أشارت دراسة (السيد، الأخرس، ٢٠٠٩) الى ان وجود التركيز العالي من IL-10 في مصل مرضى الاورام هو مضر من الناحية الصحية للمصاب ومفيد للورم وذلك لما يتمتع به من خواص مثبطة للرد المناعي، وأشارت دراسة أخرى الى ان إطلاق البروستوكلاندين TNF- α E2 ، ، TGF- β من خلايا الورم أنها تحفز خلايا المناعية للمضيف على إنتاج IL-10 ، وربما يعمل IL-10 كعامل نمو أو عامل مساعد في تحفيز نمو الخلايا السرطانية (Beckebaum وآخرون 2004).

2-6-5 عامل النخر الورمي الفا Tumor Necrosis Factor-alpha

TNF- α هو بروتين وزنه الجزيئي 17 كيلو دالتون مكون من 157 حامض اميني، تم تعيين الجين المسؤول عن التعبير عن هذا البروتين في الانسان على chromosome 6p21.3 (Muller وآخرون 1987)، وهو من الحركات الخلوية التي تساهم في الالتهابات الجهازية

والمناعة والموت المبرمج وهو عضو في مجموعة من الحركات الخلوية التي تحفز تفاعلات
الطور الحاد، عزل لأول مرة في 1975 من قبل (Carswell وآخرون 1975).

الدور الأولي $TNF-\alpha$ هو تنظيم الخلايا المناعية، إذ وجد أن معظم الأعضاء في الجسم
تتأثر بـ $TNF-\alpha$ ، ويكون متعدد الوظائف وله دور في تحفيز وتنشيط النمو، وهو قادر على
تحفيز الموت المبرمج للخلايا وينشط كذلك عملية تكون الورم وتضاعف الفيروسات
(Brian وآخرون 2004).

يلعب $TNF-\alpha$ دوراً رئيساً في تنظيم التفاعلات الالتهابية، ويعمل على تدمير الأنسجة، لذا
فإن المستويات العالية من $TNF-\alpha$ تقود إلى الكثير من الأمراض ومنه السرطان (Hamman
وآخرون 2013) .

إن تخليق $TNF-\alpha$ يحفز بالكثير من العوامل المختلفة ومنها : الأنترفيرون $interferons$
، $IL-2$ ، $GM-CSF$ ، PAF (platelet activating factor)، وينشط إنتاجه من خلال الكثير
من العوامل ومنها: $IL-6$ (Interleukin-6), $TGF-beta$, vitamin D3, prostaglandin
، $E2$ ، تكون فعاليته البيولوجية أساساً من خلال ارتباطه مع مستقبل له على سطح الخلية، يفرز
أساساً من خلال تفعيل خلايا T -lymphocyte , macrophage , NKC ويتم التعبير عنه
من قبل بعض أنواع الخلايا لكن بنسبه قليله جدا تكاد تكون معدومة مثل الخلايا الليفية
والعضلات الملساء والخلايا السرطانية، في داخل الخلايا يتم إنتاج $TNF-\alpha$ بشكل $pro-$
 $TNF-\alpha$ ويكون وزنه الجزيئي 26 كيلو دالتون يرتبط هذا $pro-TNF-\alpha$ مع غشاء الخلية من
الداخل، وبفعل انزيم $TNF-$ converting enzyme ينشط إلى شطرين ويتحول إلى
 $TNF-\alpha$ (Bemelmans وآخرون 1996).

هنالك مستقبلان TNF- α وهما TNF-R1 و TNF-R2 ان انجذاب TNF- α الى المستقبل الثاني R2 هو أكثر بخمسة اضعاف من انجذابه للمستقبل الاول R1 (Remco van واخرون 2006).

ان المستقبل الاول هو P60 أي مكون من بروتين يحتوي على 60 حامض اميني ويتم التعبير له في كل انواع الخلايا، والمستقبل الثاني P80 وهو بروتين مكون من 80 حامض اميني يتم التعبير له على سطح الخلايا المناعية فقط (Aggarwal, 2003).

يختلف المستقبل الاول عن المستقبل الثاني ان في المستقبل الاول توجد خاصية (death domain DD) وهي معدومة في المستقبل الثاني لذا المستقبل الاول هو عضو مهم في عائلة المستقبلات التي تحفز الموت المبرمج للخلايا apoptotic cell death، عند ارتباط TNF- α مع المستقبل الاول TNF-R1 يتم تفعيل مسارين داخل الخلية :

١- NF-kB وهو المسار الذي يؤدي الى سلسلة من التفاعلات ونتاج عوامل مختلفة تؤدي تحفيز الخلية على التوالد .

٢- AP-1 (activator protein 1) وهو مسار يؤدي الى تفعيل عدد من البروتينات التي تؤدي الى تفعيل الموت المبرمج للخلايا .

اثبتت الدراسات ان عامل النخر الورمي TNF- α يهاجم الخلايا الطلائية المبطنة للأوعية الدموية للورم فيسبب نخرًا للوعاء الدموي ونزفًا في الورم، إذ اثبتت الدراسات انتشار مستقبلات TNF-R1 بكثرة في الخلايا الطلائية المبطنة للوعاء الدموي للورم مقارنة مع الخلايا الطلائية المبطنة للوعاء الدموي للنسيج السليم، إذ استخدمت هذه الحالة بدمج العلاج الكيميائي مع TNF- α وذلك لتركيز العلاج الكيميائي اكثر في الورم عند حدوث النزف في الورم، لذا عند حدوث نزف في الورم سوف يتركز الكثير من العلاج في الورم (Remco van واخرون 2006)..

الفصل الثالث / المواد وطرائق العمل

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1-3 مجاميع الدراسة

شملت الدراسة 50 مريضاً مصاباً بسرطان الكبد تراوحت اعمارهم بين 28 - 75 سنة جمعت عينات المرضى من مستشفى الاورام التعليمي/ بغداد ، ومستشفى الامل الوطني لعلاج الاورام/ بغداد، ومستشفى بغداد التعليمي قسم الجراحة، للمدة من 2015/7/25 ولغاية 2016/2/25، قسمت المرضى الى ثلاث مجاميع تبعاً لنوع الإصابة بالسرطان المجموعة الاولى 30 مصاباً بسرطان الكبد الاولي منهم 21 اناثاً و9 ذكوراً حديثي التشخيص لم يتم اعطاؤهم اي علاج تراوحت اعمارهم بين 31 - 67 سنة ، والمجموعة الثانية 20 مصاباً بسرطان الكبد الثانوي منهم 12 اناثاً و8 ذكوراً حديثي التشخيص ايضاً تراوحت اعمارهم بين 28 - 75 سنة لم يتم اعطاؤهم اي علاج، وتم متابعة مجموعة مرضى سرطان الكبد الثانوي خلال مدة الدراسة على مدى ثلاثة اشهر بعد تلقيهم العلاج الكيميائي بمعدل 4 جرع من العلاج، وقورنت النتائج مع مجموعة السيطرة المؤلفة من 20 شخص منهم 10 اناث و10 ذكور لا يعانون من اي مشاكل صحية او امراض مزمنة.

3-1 : الاجهزة Apparatus

جدول (1-3) الاجهزة المستخدمة والشركات المجهزة لها .

ت	اسم الجهاز	الشركة المجهزة والمنشأ
1	حاضنة Incubator	Memmert (German)
2	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Kokusan (Japan)
3	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer	CECIL-2031 (England)
4	مرشحات غشائية دقيقة Millipore filter	Sartorius (Germany)
5	مجمدة عمودية (-20°C) Upright Freezer (-20°C)	Rinox (Italia)
6	ماصات دقيقة (ثابتة ، ومتغيرة)	China
7	جهاز قياس الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم ELISA	USA
8	حمام مائي Water bath	Germany
9	انبوبة ابندروف 1.5cc لحفض مصل الدم Ependroff tube	Jordan
10	أنبوبة اختبار بلاستيكية Plain tube 10cc	Jordan

China	محاقن طبيه سعة 5cc لسحب الدم Disposable Syringe	11
-------	---	----

2-3: العدد المختبرية والمواد الكيميائية Laboratory Kits

جدول (2-3) العدد المختبرية والمواد الكيميائية.

ت	اسم العدة المختبرية	الشركة المجهزة والمنشأ
1	إنزيم (AST)	Randox / United Kingdom
2	إنزيم (ALT)	Randox / United Kingdom
3	إنزيم ALP	Biomerieux / France
4	عدة فحص الالبومين	BioMerieux
5	عدة فحص البليروبين الكلي والمباشر	AGAPPE / Switzerland
6	Human Interleukin-1 α ELISA kit	Peprotech / USA
7	Human Interleukin-2 ELISA kit	Peprotech / USA
8	Human Interleukin-6 ELISA kit	Peprotech / USA
9	Human Interleukin-10 ELISA kit	Peprotech / USA
10	Human TNF- α ELISA kit	Peprotech / USA

3-4 : جمع عينات الدم Collection of blood samples

جمعت عينات الدم لمدة من 2015/7/25 الى 2016/2/25 أذ تم سحب 5 مل من

الدم الوريدي لمجاميع الدراسة باستعمال محاقن نبيذة ، وضعت عينات الدم في أنابيب اختبار

لغرض التخثر بدرجة حرارة الغرفة (20-25م) لمدة (30 دقيقة)، فصل المصل serum بجهاز

الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 4000 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق، قسم المصل إلى عشرة أقسام، إذ يستخدم كل قسم في عملية فحص واحد من العدد المختبرية (الكثات) و وضع في أنابيب ابندروف Eppendorf Tube بحجم 0.5 مل لكل أنبوبة ثم حفظت النماذج مجمدة بدرجة حرارة -20 °م لحين إجراء الفحوصات المختبرية.

3-5 الفحص المناعي للحركيات الخلوية Cytokine Immunoassay :

استخدمت تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbents Assay لقياس مستوى الحركيات الخلوية في السوائل الحيوية مثل المصل ، تعطي هذه التقنية نتائج دقيقة وبوقت اقصر دون استخدام مواد مشعة مقارنة مع القياسات الحيوية والقياسات المناعية الشعاعية، وهي سهلة من الناحية العملية، ان استخدام القارئ الالي وجهاز الغسل الالي مكن من استخدام عدد كبير من العينات لقياسها في وقت واحد ولقياس مستوى الحركيات الخلوية بتقنية الاليزا يجب استخدام اجسام مضادة للحركي الخلوي المراد قياسه، إذ تعمل هذه الاجسام المضادة على الارتباط بالحركي الخلوي في العينة، ان تركيز الحركي الخلوي في العينة هو الذي يحدد كمية ارتباط الجسم المضاد الاسر مع الحركيات الخلوية، واذا كان هناك اجسام مضادة غير معلمة اي غير مرتبط بها الحركي الخلوي يمكن استخدام اجسام مضادة خاصه للارتباط بالجسم المضاد الاسر.

3-6 : محتويات العدة للحركيات الخلوية kit contents

وتحتوي عدة الفحص المناعي للحركيات الخلوية على :-

1- صفيحة المعايرة القياسية الخاصة بقارئ الاليزا Micro plate

2- قنينة الجسم المضاد الاسر Capture antibody vial

Detection antibody vial	٣- قنينة الجسم المضاد الكاشف
Human interleukin standard vial	٤- قنينة الحركي الخلوي القياسي
Avidin-HRP conjugate vial	٥- قنينة انزيم الاقتران
Tablets of PBS phosphate buffer solution	٦- حبوب محلول دارى الفوسفات
Tablets of phosphate citrate buffer (PCB)	٧- حبوب دارى سترات الفوسفات
Bovine serum albumin (BSA)	٨- البومين المصل البقري
Tween -20	٩- مادة
Tablets of O-orthophenylene diamine (OPD)	١٠- حبوب المادة الاساس

3-7 تحضير المحاليل : Solution preparation

وضعت جميع محتويات العدة في درجة حرارة الغرفة (20-25) لمدة 30 دقيقة قبل الاستخدام:

١- حضر محلول دارى الفوسفات (PBS) Phosphate Buffer solution بإذابة حبة واحدة في 200 مل من الماء المقطر .

٢- حضر محلول القالب الدارى Block Buffer يحتوي (BSA 1%) بإذابة 0.25 غم من (BSA) في 25 مل من محلول PBS .

٣- حضر محلول التخفيف Dilution Buffer يحتوي (BSA 0.1%) من خلال أخذ 5 مل من محلول القالب الدارى المحضر سابقا ويكمل الحجم الى 50 مل بمحلول PBS وبعد التخفيف يضاف له اربع قطرات من مادة Tween-20 .

٤- حضر محلول سترات الفوسفات (PC.B) بإذابة كبسولة واحدة في 100 مل من الماء المقطر D.W ويخزن في الثلاجة لحين الاستعمال .

٥- حضر محلول الغسل washing buffer بإضافة 0.5 مل من مادة Tween-20

الى 500 مل من محلول PBS .

٦- حضر محلول المادة الاساس Substrate solution بإذابة حبة واحدة من حبوب

OPD الى 25 مل من محلول PC.B المحضر مسبقا ويحضر هذا المحلول قبل

10 دقائق من آخر خطوة.

٧- محلول وقف التفاعل : وهو حامض الكبريتيك H_2SO_4 مخفف ذو عيارية 0.5 .

٨- محلول الجسم المضاد الاسر Capture antibody solution :

وضعت القنينة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 12000 دورة/دقيقة لمدة نصف دقيقه قبل

الفتح، أضيف لها كمية من الماء المقطر (كمية الماء حسب نوع الحركي الخلوي وحسب

التعليمات المرفقة، إذ تم اضافة 55 ميكرو لتر من الماء المقطر الى IL-1a، واضيف 105

مكرو لتر من الماء المقطر الى IL-2,IL-6,IL-10,TNF- α) بعدها خففت الكمية

بإضافة 10.5 مل من محلول PBS حسب تعليمات كل عده .

٩- محلول الجسم المضاد الكاشف Detection antibody solution :

وضعت القنينة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 12000 دورة/دقيقة لمدة نصف دقيقة

قبل الفتح، أضيفت لها كميته من الماء المقطر (كمية الماء حسب نوع الحركي الخلوي وحسب

التعليمات المرفقة، إذ تم اضافة 55 ميكرو لتر من الماء المقطر الى IL-6,IL-10,TNF- α

,IL-1 α ، واضيف 30 ميكرو لتر من الماء المقطر الى IL-2) بعدها خففت الكمية

بإضافة 10.5 مل من محلول الغسل حسب تعليمات كل عده .

١٠- المحلول القياسي standard solution :

وضعت القنينة في جهاز الطرد المركزي 12000 دورة/دقيقة لمدة نصف دقيقة قبل الفتح، بعدها خففت الكمية بإضافة 1 مل من الماء المقطر D.W الى كل علبة من علب الحركيات الخلوية، ولتحضير التراكيز القياسية للحركيات الخلوية تم أخذ 5 ميكرو لتر من المحلول الناتج (وحسب نوع الحركيات الخلوية وحسب التعليمات المرفقة في العدة) وأضيفت الى انبوبة تحتوي على 1 مل من محلول التخفيف ونقلت من الأنبوب الاول 0.5 مل الى الانبوب الثاني الذي يحتوي على 0.5 مل من محلول التخفيف، وتكرر العملية في سبعة انابيب للحصول على تركيز قياسي على النحو التالي ، 312.5pg ، 625pg ، 1250pg ، 2500pg ، 5000pg ، 78.125pg ، 156.25pg.

١١- حضر محلول avidin-HRP conjugate : من خلال اخذ 5.5 ميكرو لتر

من المحلول ويخفف بمحلول التخفيف ويكمل الحجم الكلي الى 11 مل.

3-8 :طرائق العمل Methods

3-8-1 : قياس مستوى كل من TNF- α و IL-1 α و IL-6 و IL-10 و IL-2 في المصل :

تم قياس مستوى كل من TNF- α ، IL-1 α ، IL-6 ، IL-10 ، IL-2 في مصول الأشخاص المصابين و غير المصابين و ذلك باستخدام طريقة الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA والمعتمدة على مبدأ تغير اللون الناتج عن ارتباط الأضداد النوعية الخاصة بالمستضد و كما يلي

مبدأ الاختبار Principle of test

يقوم مبدأ الاختبار على استخدام أضداد نوعية خاصة بهذه الحركيات الخلوية، أذ غطيت بها جميع الحفر المتوافرة في صفيحة المعايرة الدقيقة، وحضنت لليلة كاملة بدرجة حرارة الغرفة،

في اليوم التالي غسلت صفيحة المعايرة الدقيقة و أضيف للحفر المحاليل القياسية و العينات و بحسب الخطوات المثبتة في دليل الشركة المنتجة و عند اكتمال الخطوات يقاس التغير اللوني الناتج بواسطة جهاز قارئ الاليزا و على الطول الموجي 490 نانومتر .

خطوات تحضير الصفيحة :plate Preparation

١- أضيف 100 ميكرو لتر من محلول الجسم المضاد الاسر المخفف المحضر مسبقا diluted Capture Antibody الى كل الحفر في الصفيحة وغطيت الصفيحة وتحضن بدرجة حرارة الغرفة ليليه كاملة بمعدل 12 ساعه .

٢- افرغت الحفر من محلول الحضان و غسلت 300 ميكرو لتر من محلول الغسل بواسطة جهاز الغسل الاوتوماتيكي الخاص بجهاز ELISA أربع مرات بعد اكتمال ازالة السوائل من الحفر، وبعد الغسل تم نقر الصفيحة على ورق نشاف نضيف لإزالة السوائل العالقة.

٣- أضيف 200 ميكرو لتر من محلول القالب الدارئ الى كل حفرة وحضنت الصفيحة لمدة 1 ساعة في درجة حرارة الغرفة .

٤- بعد الحضان أفرغت الحفر من محلول القالب الدارئ و غسلت اربع مرات بجهاز الغسل باستخدام 300 ميكرو لتر من محلول الغسل، نقرت الصفيحة على ورق نشاف بعد الغسل.

٥- وضع في كل حفره 100 ميكرو لتر من المحلول القياسي المخفف للتركيز المعدة مسبقاً، ثم اضيفت العينات الى باقي الحفر وحضنت بدرجة حرارة الغرفة لساعتين .

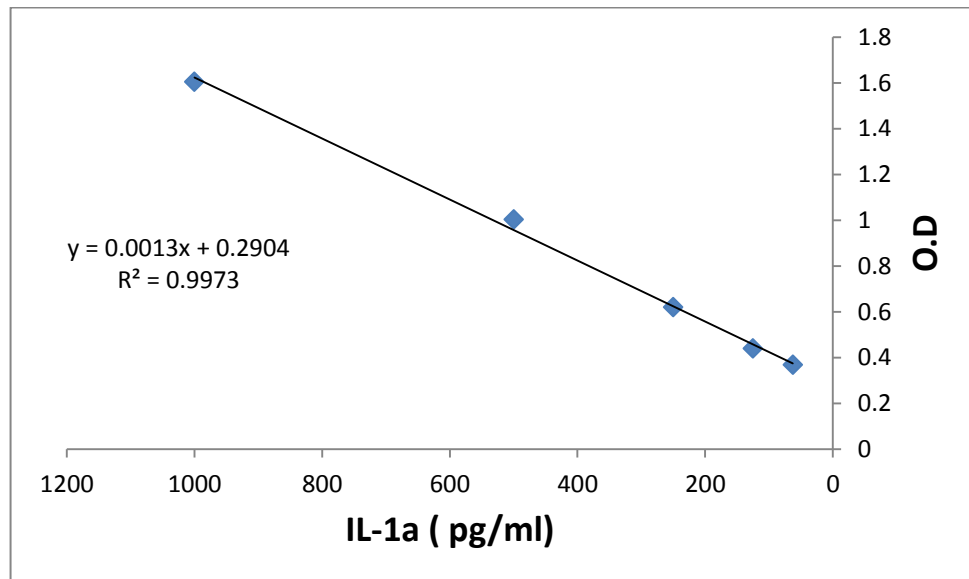
٦- افرغت الحفر من المحلول القياسي، والعينات، بعد اكتمال مدة الحضان و غسلت الحفر اربع مرات باستخدام جهاز الغسل باستخدام 300 ميكرو لتر من محلول الغسل بعدها نقرت

الصفيحة على ورق نشاف نضيف ثم أضيفت 100 ميكرو لتر من محلول الجسم المضاد الكاشف وحضنت لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة، افرغت الحفر من محلول الجسم

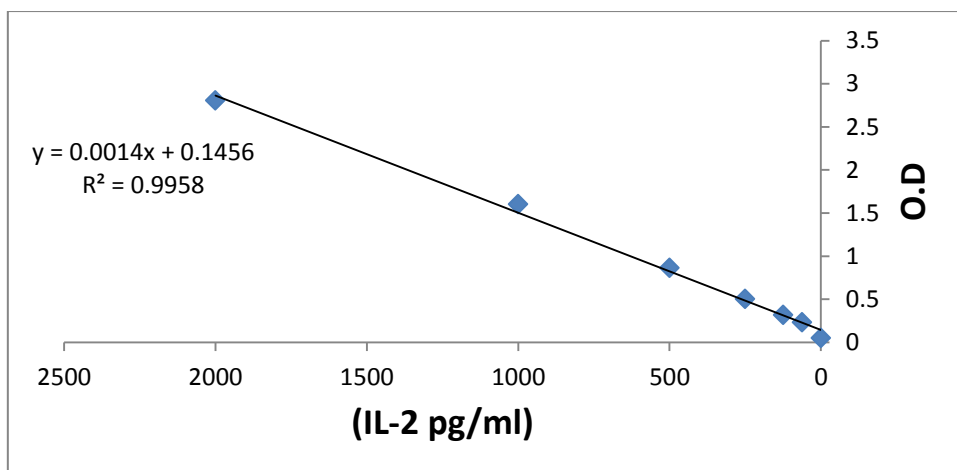
المضاد الكاشف، وغسلت الحفر اربع مرات باستخدام جهاز الغسل باستخدام 300 ميكرو لتر من محلول الغسل، بعدها نقرت الصفيحة على ورق نشاف ثم أضيف 100 ميكرو لتر من محلول Avidin- HRP conjugate المخفف وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة .

٧- افرغت الحفر من محلول Avidin- HRP conjugate وغسلت الحفر اربع مرات باستخدام جهاز الغسل باستخدام 300 ميكرو لتر من محلول الغسل بعدها نقرت الصفيحة على ورق نشاف ثم أضيف 100 ميكرو لتر من محلول المادة الاساس الى كل حفرة وحضنت الصفيحة بدرجة حرارة الغرفة الى ان تطور اللون في الحفر الذي أستغرق من 10 الى 15 دقيقة ثم تم اضافة محلول ايقاف التفاعل الى كل حفره بمعدل 50 ميكرو لتر لكل حفره .

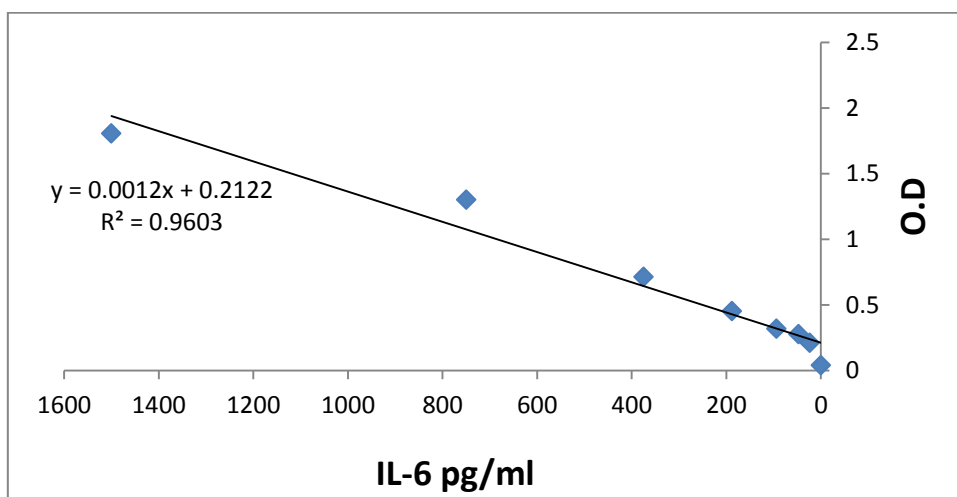
٨- يتم قياس الكثافة اللونية بجهاز قارئ الاليزا عند طول موجي 490 نانومتر، ثم اخراج التراكيز من المنحنيات التالية .



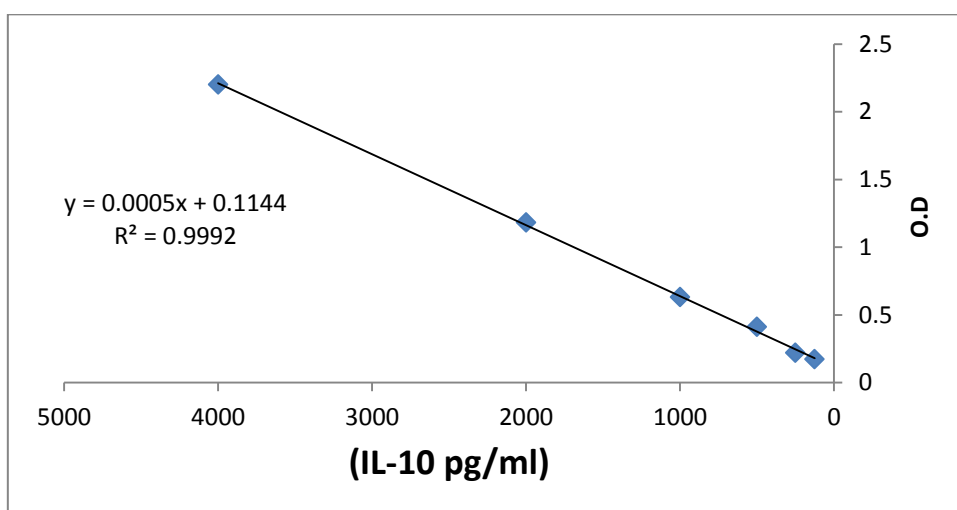
شكل (1.3) يوضح المنحنى القياسي IL-1α



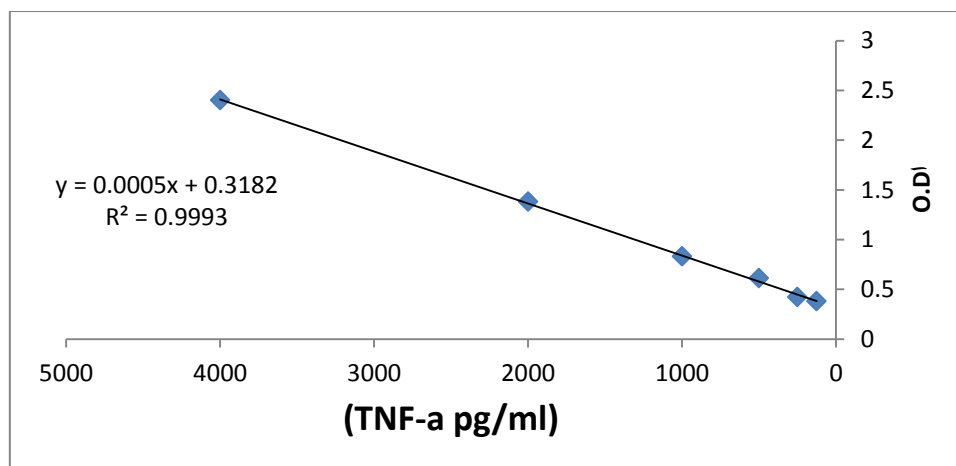
شكل (2.3) يوضح المنحنى القياسي IL-2



شكل (3.3) يوضح المنحنى القياسي IL-6



شكل (4.3) يوضح المنحنى القياسي IL-10



شكل (5.3) يوضح المنحنى القياسي TNF- α

2-8-3 قياس فعالية إنزيم AST في المصل:

تم تحديد فعالية إنزيم AST باستعمال العدة التشخيصية المجهزة من شركة (United

Kingdom) Randox التي تعتمد مبدء Colorimetric method.

• مبدأ العمل Principle

حددت فعالية إنزيم AST بواسطة تنظيم تركيز Oxaloacetate hydrazon

المتكون مع 2,4-dinitrophenylhydrazine، الذي يعطي لوناً بنياً يمكن قياسه بواسطة

جهاز المطياف الضوئي على طول موجي 546 نانومتر، إذ تتناسب شدة اللون مع تركيز

الإنزيم في المصل (Reitman و Frankel ، 1957).



الكواشف المستخدمة Reagents

R1	Buffer	
	Phosphate buffer	100 mmol/l ,pH 7.4
	L-aspartate	100 mmol/l
	α -oxoglutarate	2 mmol/l
R2	2,4 dinitrophenylhydrazine	2.0 mmol/l
R3	sodium hydroxide	4.0 mol/l
	CAL. pyruvate Standard	See lot specific insert

• طريقة العمل Procedure

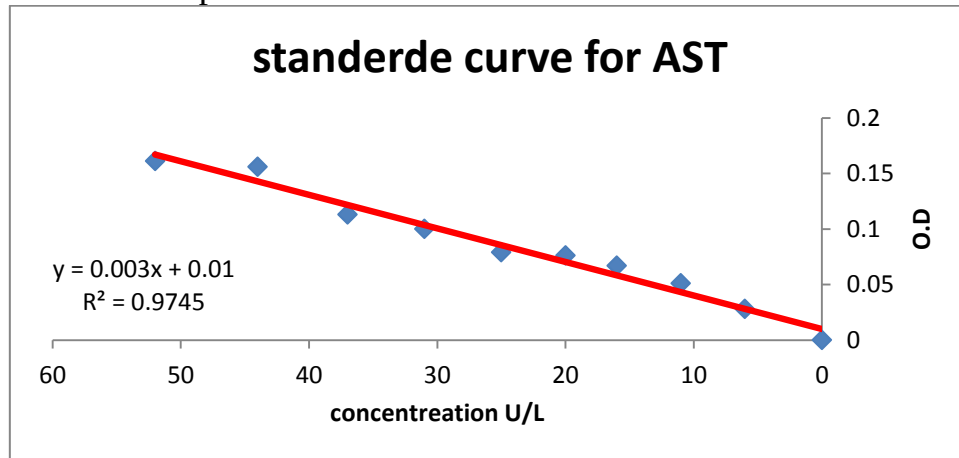
- ١- اخذت انايب اختبار عدد 2 احدهما للعينة والاخر Blank ، وضع في كل انبوب 0.5 مل من محلول R1 ووضع في الانبوب الخاص بالعينة 100 ميكرو لتر من المصل وخلطت جيدا وحضنت بدرجة حرارة 37 م° ولمدة 30 دقيقة .
 - ٢- اضيف 0.5 مل من محلول R2 الى كلا الانبوبين وخلطت جيدا وتركت بدرجة حرارة الغرفة 20-25 م° ولمدة 20 دقيقة .
 - ٣- أوقف التفاعل بإضافة 5 مل من هيدروكسيد الصوديوم، ثم قرأت الامتصاصية بعد 5 دقائق من ايقاف التفاعل على طول موجي 546 نانومتر كما في الجدول (3-3).
- جدول (3-3) قياس انزيم AST

	Reagent blank	Sample
Sample	----	0.1ml
Buffer(R1)	0.5ml	0.5ml
Distilled Water	0.1ml	----
Mix well and incubate at 37°C for 30minutes.		
2,4DNP(R2)	0.5ml	0.5ml
Mix well and allow to stand for 20 minutes.at 20 to 25°C		
Sodium hydroxide (r3)	5ml	5ml

• الحسابات Calculations

تم احتساب فعالية إنزيم AST في مصل الدم من المنحنى القياسي الذي تم تحضيره في المختبر كما موضح في الشكل (6.3).

Normal value : Up To 12 U/L



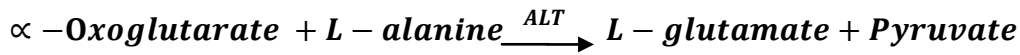
شكل (6.3) يوضح المنحنى القياسي لأنزيم AST

3-8-3 قياس فعالية إنزيم ALT في المصل .

تم تحديد فعالية إنزيم AST في المصل باستخدام العدة التشخيصية المجهزة من شركة
(United Kingdom) Randox.

• مبدأ العمل Principle

حددت فعالية إنزيم ALT بواسطة تنظيم تركيز (Pyruvate hydrazone) المتكون مع 2,4-dinitrophenylhydrazine ، الذي يعطي لوناً بنياً يمكن قياسه بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجي 546 nm ، إذ تتناسب شدة اللون مع تركيز الإنزيم في المصل (Reitman و frankel ، 1957).



• الكواشف المستخدمة Reagents

R1	Buffer	100 mmol/l ,pH 7.4 200 mmol/l 2.0 mmol/l
	Phosphate buffer	
	L-alanine	
	a-oxoglutarate	
R2	2,4 dinitrophenylhydrazine	2.0 mmol/l
R3	sodium hydroxide	4.0 mol/l
	CAL. pyruvate Standard	See lot specific in sert

• طريقة العمل Procedure

- 1- أخذت أنابيب اختبار عدد 2 أحدهما للعينة والآخر blank ، وضع في كل أنبوب 0.5 مل من محلول R1 ووضع في الأنبوب الخاص بالعينة 100 ميكرو لتر من المصل وخلطت جيداً وحضنت بدرجة حرارة 37 °م ولمدة 30 دقيقة .
- 2- أضيف 0.5 مل من محلول R2 الى كلا الأنبوبين وخلطت جيداً وتركت بدرجة حرارة الغرفة 20-25 °م ولمدة 20 دقيقة .
- 3- أوقف التفاعل بإضافة 5 مل من هيدروكسيد الصوديوم، ثم قرأت الامتصاصية بعد 5 دقائق من إيقاف التفاعل على طول موجي 546 نانومتر، كما في الجدول (3-4).

جدول (4-3) قياس انزيم ALT

	Reagent blank	Sample
Sample	----	0.1ml
Buffer(R1)	0.5ml	0.5ml
Distilled Water	0.1ml	----
Mix well and incubate at 37°C for 30minutes.		
2,4DNP(R2)	0.5ml	0.5ml
Mix well and allow to stand for 20 minutes.at 20 to 25°C		

تم اتباع خطوات العمل نفسها في قياس فعالية إنزيم AST لقياس فعالية انزيم ALT

باستثناء استعمال محلول دارى الفوسفات

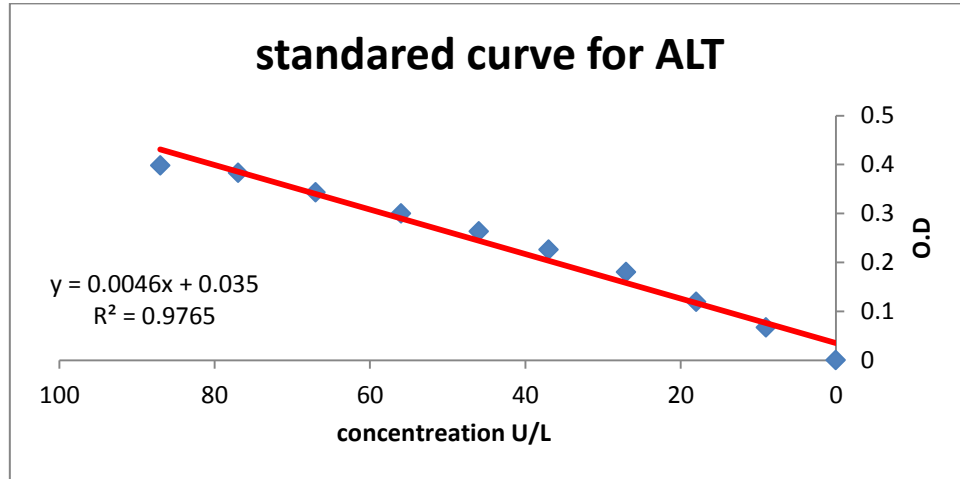
(Phosphate buffer, L- alanine, α-Oxglutarate) الخاص بالعدة التشخيصية

لفحص ALT، قرأت الامتصاصية على الطول الموجي 546 nm نانومتر.

• الحسابات Calculations

احتسبت فعالية الإنزيم من خلال المنحنى القياسي الذي تم تحضيره في المختبر اعتماداً على قراءة العينة كما في الشكل (7.3).

Normal Value : Up To 12 U/L



شكل (7.3) يوضح المنحنى القياسي ALT

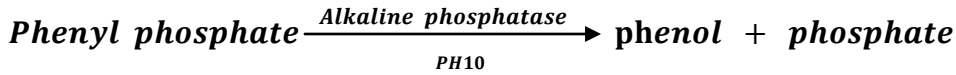
3-8-4 قياس فعالية إنزيم ALP في المصل.

تم تحديد فعالية ALP القاعدي في مصل الدم باستخدام العدة التشخيصية المجهزة من

شركة (France) Biomerieux.

• مبدأ العمل Principle

تم قياس الشدة اللونية لفعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي بحسب التفاعل الآتي :



وقيس الفينول المتحرر بوجود 4- amino antipyrine و Potassium ferricyanide ،

وجود زرنخ الصوديوم Sodium arsenate في الكاشف يوقف التفاعل الأنزيمي الذي

يعطي لوناً بنياً يمكن قياسه في جهاز المطياف على الطول الموجي 510 nm ، تتناسب شدة

اللون الناتج طردياً مع كمية الإنزيم في المصل (Kind و KinG ، 1954).

• الكواشف المستخدمة Reagents

R1	Substrate buffer	Di sodium phenyl phosphate	5 mmol/l
		Carbonate-bicarbonate	
		Buffer pH10	50 mmol/l
		Sodium merthiolat	0.1 g/l
R2	Standard	Phenol equal to 20 king and king	U
R3	reagent blocking	4-aminoantipyrine	60 mmol/l
		Sodium arsenate	75 g/l
R4	Color reagent	Potassium ferricyanide	150 mmol/l

• طريقة العمل Procedure

١- اخذت انايب اختبار عدد 3 احدهما للعينة والاخر blank والانبوب الثالث للقياسي

اضيف الى كل الانابيب 2 مل من محلول R1 وحضنت كل الانابيب لمدة 5 دقائق

بدرجة حراره 37 م.

٢- اضيف 50 ميكرو لتر من المصل الى انبوب العينة و اضيف 50 ميكرو لتر من محلول R2 الى انبوب القياسي ، اما الانبوب الثالث لم يضاف له شيء و مزجت جيدا و حضنت لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 37 م .

٣- اضيف 0.5 مل من محلول R3 الى جميع الانابيب و خلطت جيدا .

٤- اضيف 0.5 مل من محلول R4 الى جميع الانابيب و مزجت جيدا و تركت لمدة 10 دقائق في الظلام وقيست الامتصاصية عند طول موجي 510 نانومتر للعينة والقياسي مقابل blank كما في الجدول (3-5).

جدول (3-5) قياس فعالية انزيم ALP

	Serum Sample	Serum Blank	Standard	Reagent Blank
R1	2ml	2ml	2ml	2ml
Incubate for 5 minutes at 37C				
Serum R2	50 µl	----	50 µL	----
Incubate for exactly 15 minutes at 37C				
R3	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5ml
Mix well or preferably vortex				
R4	0.5	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Serum	----	50 µL	----	----
Distill water	----	----	----	50 µL

• الحسابات Calculations

تم قياس فعالية الإنزيم بحسب المعادلة الآتية.

A. Sample _ A. blank

Calculations of activity = _____ × n

A. Standard _ A. blank

5-8-3 تقدير الالبومين في مصل الدم

• المبدأ الاساس Basic Principle

تم تقدير كمية الالبومين باستخدام طريقة Bromocresol Green التي تعتمد على كمية الالبومين الذي يرتبط مع الكاشف (Bromocresol Green, BCG) ليكون معقد البومين برومكريسول الاخضر (Albumin-BCGComplex) ذا لون اخضر تقاس شدته عند طول موجي 630 نانوميتر في المطياف الضوئي (Varely وآخرون 1980).

• المحاليل المستخدمة

١. محلول بروموكريسول الاخضر BCG Solution

ويتكون من Succinate Buffer 75 ملي مول / لتر ذو $pH = 4.2$ ، و 0.15 ملي مول/لتر Bromocresol Green (Brij 35 preservation) . يتم تخفيفه الى 250 مليليتر ، اذ يبقى ثابتا لمدة ثلاثة اشهر عند 15-25 درجة مئوية .

٢. المحلول القياسي Standard Solution

والمتمضمن مصل الالبومين البشري Human Serum Albumin بتركيز (4.5) غرام/ مليليتر .

• طريقة العمل Procedure

- ١- اخذت ثلاثة انابيب للعيينة والقياسي و blank .
- ٢- اضيف 100 ميكرو لتر من القياسي الى انبوب القياسي ، واضيف له 3 مل من محلول BCG تمزج وتوضع في حمام مائي 20-25 م، لمدة 5 دقائق ، ثم تقاس شدة الامتصاص عند طول موجي 578 نانوميتر مقابل blank.
- ٣- اضيف 100 ميكرو لتر من المصل الى انبوب العينة ، واضيف له 3 مل من محلول BCG تمزج وتوضع في حمام مائي 20-25 م لمدة 5 دقائق، ثم تقاس شدة الامتصاص عند طول موجي 578 نانوميتر مقابل blank.
- ٤- اضيف 100 ميكرو لتر من اماء المقطر الى انبوب blank، واضيف له 3 مل من محلول BCG تمزج وتوضع في حمام مائي 20-25 م لمدة 5 دقائق ، ثم تقاس شدة الامتصاص عند طول موجي 578 نانوميتر كما موضح في الجول (3-6).

جدول (6-3) قياس الالبومين.

	Reagent Blank	Standard	Test
Distilled H ₂ O	0.01 µl	-	-
Standard	-	0.01 µl	-
Serum	-	-	0.01 µl
BCG green	3 ml	3 ml	3 ml

• الحسابات Calculation

يتم تقدير الالبومين اعتمادا على المعادلة الآتية :

$$\text{Albumin Conc. (g/l)} = \frac{A_{\text{Test}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{standard}} - A_{\text{blank}}} \times \text{Concentration of standard}$$

اذ ان A تمثل شدة الامتصاص.

6-8-3 تقدير البيليروبين الكلي والمباشر في المصل Total & Direct serum Bilirubin

ينتج البيليروبين من تكسر خلايا الدم الحمراء والبعض منه يكون مرتبط والآخر يكون غير مرتبط ، في الكبد يقوم الكبد بربط البيليروبين بحامض يسمى Glucuronic acid ويعتمد هذا الربط على كفاءة الكبد ويسمى البليروبين في هذه الحالة بالبليروبين المرتبط او المباشر Direct Bilirubin ، أما غير المرتبط يسمى في هذه الحالة البليروبين غير المرتبط او غير المباشر Undirect bilirubin ويسمى البليروبين المباشر وغير المباشر بالبليروبين الكلي ، وتكثر نسبة البليروبين في المصل عند حدوث التهاب الكبد الفيروسي، وعند سرطان الكبد، وعند التليف الكبدي، والتشمع، وذلك بسبب قلة كفاءة الكبد في تخليص الجسم من البليروبين .

• مبدأ الاختبار (البليروبين المباشر) Principle

يتفاعل حامض Sulfanilic acid مع Sodium nitrite ليكون مركباً يسمى Diazotized sulfanilic acid الذي يتفاعل بدوره مع Direct Bilirubin ليشكل مركب Azobilirubin الذي يعطي تباير لوني يمكن قياسه على جهاز المطياف الضوئي .

• مكونات العدة موضحة ادناه:

الكاشف	مكوناته
Direct Bilirubin Reagent	Sulfanilic acid Hydrochloric acid Dimethylsulfoxids
Total Bilirubin Reagent	Sulfanilic acid TAB
Direct Bilirubin Activator	
Total Bilirubin Activator	

• طريقة العمل

اجريت طريقة العمل وفقا لتعليمات الشركة كالاتي :

تم تحضير انبويتي اختبار احدهما انبوب اختبار Reagent Blank والآخر انبوب Reagent Blank
يتم اضافة 1 مل من Direct Bilirubin Reagent الى كلا الانبوين بعدها يضاف لكل
انبوب 20 ميكرو لتر من Direct Bilirubin Activator ، بعدها اضيفت 50 ميكرو لتر من
العينة (المصل Serum) وحضنت لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بعدها تقاس الامتصاصية
لكلا الانبوين .

• الحسابات للبليروبين المباشر Calculation of direct bilirubin :

$$\text{Direct Bilirubin} = \text{OD of teste} - \text{OD of reagent blank} \times 20$$

• مبدء الاختبار (البليروبين الكلي Total bilirubin) Principle

يتفاعل حامض Sulfanilic acid مع Sodium nitrite ليكون مركب يسمى
Diazotized sulfanilic acid الذي يتفاعل بدوره مع Total Bilirubin ليشكل مركب
Azobilirubin الذي يعطي تغاير لوني يمكن قياسه على جهاز المطياف الضوئي .

• مكونات العدة الموضحة ادناه:

الكاشف	مكوناته
Direct Bilirubin Reagent	Sulfanilic acid Hydrochloric acid Dimethylsulfoxids
Total Bilirubin Reagent	Sulfanilic acid TAB
Direct Bilirubin Activator	
Total Bilirubin Activator	

• طريقة العمل

اجريت طريقة العمل وفقا لتعليمات الشركة كالاتي :

يتم تحضير انبويتي اختبار احدهما انبوب Test والاخر انبوب Reagent Blank يتم اضافة 1 مل من Total Bilirubin Reagent الى كلا الانبوين بعدها يضاف لكل انبوب 20 ميكرو لتر من Total Bilirubin Activator بعدها يضاف 50 ميكرو لتر من العينة (المصل Serum) الى انبوب Test وتحضن لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بعدها تقاس الامتصاصية لكلا الانبوين .

• الحسابات للبيروين الكلي Calculation of Total bilirubin :

$$\text{Total Bilirubin} = \text{OD of teste} - \text{OD of reagent blank} \times 29.00$$

ويمكن حساب البيروين الغير مباشر من خلال المعادله التاليه :

$$\text{Undirect Bilirubin} = \text{Total bilirubin} - \text{Direct bilirubin}$$

...

الفصل الرابع / النتائج والمناقشة

النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-1: المتغيرات المناعية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي

1- البين ابيضاضي ١ الفا Interleukin -1 α

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P<0.01$) في مستويات IL-1 α لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمجموعة السيطرة، إذ بلغت مستوياته (21.75 $\pm$ 85.10) ، (11.8 $\pm$ 34.15) بيكوغرام /ملليتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (23.10 $\pm$ 85.20) بيكوغرام /ملليتر، وعند مستوى معنوية ($P<0.05$) مقارنة بمجموعة السيطرة، ولا توجد فروقات معنوية في مستويات IL-1 α بين مجاميع المرضى كما موضح في الجدول (1-4).

جدول (1-4) العمر والجنس ومستويات IL-1 α ,IL-2,IL-6,IL-10,TNF- α في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي مقارنة بالسيطرة .

المتوسط الحسابي $\pm$ الانحراف المعياري			المتغيرات
سرطان الكبد الثانوي	سرطان الكبد الاولي	مجموعة السيطرة	
20	30	20	العدد
12/8	21/9	10/10	الجنس (ذكر/انثى)
7.5 $\pm$ 57.5	5.34 $\pm$ 49.8	6.29 $\pm$ 51.85	العمر (سنة)
* 23.10 $\pm$ 85.20	** 21.75 $\pm$ 85.10	11.8 $\pm$ 34.15	Interleukin-1 α بيكوغرام /ملليتر
* 36.22 $\pm$ 84.00	*** 21.33 $\pm$ 62.80	38.67 $\pm$ 124.70	Interleukin-2 بيكوغرام /ملليتر
** 39.20 $\pm$ 209.70	** 44.67 $\pm$ 216.07	19.10 $\pm$ 44.20	Interleukin-6 بيكوغرام /ملليتر
* 35.84 $\pm$ 167.40	*** 42.67 $\pm$ 288.03	28.67 $\pm$ 87.20	Interleukin-10 بيكوغرام /ملليتر
***b 46.11 $\pm$ 287.15	**a 41.67 $\pm$ 123.78	27.25 $\pm$ 68.52	TNF- α بيكوغرام /ملليتر

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p<0.05$ ، ** $p<0.01$ ، *** $p<0.001$ ،

a,b فرق معنوي عن مجموعة سرطان الكبد الاولي والثانوي عند مستوى $p < 0.05$

أن ارتفاع مستويات IL-1 α يرجع الى الاسباب التالية : الضرر الحاصل في الخلايا

الكبدية مما ينتج عنها عدم قدرة الكبد على ازالة المستويات العالية من الحركيات الخلوية، اذ

بينت الدراسة الحالية ضررا في الكبد لدى المرضى اعتمادا على القيم الفسلجية قيد الدراسة .

ان ارتفاع مستويات TNF- α له تأثير على الخلايا الطبيعية، والمناعية، والسرطانية، أذ

يحفزها لإنتاج IL-1 α من خلال مسارات NF-kB (Dinarello,1996)، أذ اشارت نتائج

الدراسة الى وجود علاقة ارتباط موجبة بين IL-1 α و TNF- α ($r = 0.292$) كما موضح

بالتداول (2-4)، واتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (Sergei I واخرون، 2010).

جدول (2-4) علاقة الارتباط بيرسون بين المتغيرات المناعية و الكيموحيوية في مرضى

سرطان الكبد .

المتغيرات	العلاقات	IL-1 α	IL-2	IL-6	IL-10	TNF- α
IL-1 α	R	1	0.099	-0.161	0.278*	0.292*
	p-value		0.313	0.183	0.048	0.042
IL-2	R	0.099	1	0.145*	0.290*	0.047
	p-value	0.213		0.059	0.055	0.299
IL-6	R	-0.161	0.145*	1	0.011*	-0.067
	p-value	0.183	0.059		0.052	0.384
IL-10	R	0.278*	0.290*	0.011*	1	-0.061
	p-value	0.048	0.055	0.052		0.315
TNF- α	R	0.292*	0.047	-0.067	-0.061	1
	p-value	0.042	0.299	0.284	0.315	
AST	R	-0.020	0.177*	.299*	-.263*	0.254*
	p-value	0.471	0.058	0.042	0.028	0.053
ALT	R	-0.023	0.158*	0.157*	0.160*	0.202*
	p-value	0.348	0.053	0.037	0.057	0.041
ALP	R	0.071	-0.234*	-0.157	0.190*	0.121*
	p-value	0.257	0.051	0.194	0.045	0.051
Albumin	R	0.005	-0.187*	-0.015	0.130*	-0.190*
	p-value	0.464	0.057	0.499	0.052	0.055
BT	R	-0.206	0.004	-0.086	0.045*	-0.013
	p-value	0.086	0.575	0.278	0.057	0.518
BD	R	-0.182	0.206	-0.071	0.042	-0.064

0.200	0.231	0.360	0.087	0.132	p-value	
-------	-------	-------	-------	-------	---------	--

ويعود سبب ارتفاع IL-1 α الى ارتفاع IL-10 اذ يؤثر الاخير على مسار NF-kB في الخلية الذي يحفز انتاج IL-1 α ، وبينت الدراسة الحالية الى وجود علاقة ارتباط موجبة بين IL-10 و IL-1 α ($r = 0.278$) كما موضح في الجدول (4-2)، واتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (WANG وآخرون ، 2006) و(Kurzrock 2001).

في حين اشار (McMahan وآخرون 1991) الى ان ارتفاع مستويات IL-1 α عند المصابين بسرطان الكبد الاولي والثانوي كونه يتوسط الاستجابة الخلوية من خلال ارتباطه بمستقبله الخاص الموجود على سطوح الخلايا، وبين elgert, 1996 ان سبب ارتفاع مستويات IL-1 α يعود الى افرازه من قبل الخلايا الحاوية على الانوية سواء المناعية وغير المناعية، عدا خلايا T. Cell، وينتج IL-1 α في حالات فسلجية خاصة عند الاستجابة المناعية لبعض المحفزات immunologic مثل Cytokines, C5a, interferon-g، او محفزات جرثومية مثل البكتيريا، وقد تكون Urate crystals, silica crystals لها دور في تحفيز انتاج IL-1 α ، ويؤثر IL-1 α على الخلايا الكبدية Hepatocyte مما يرفع من انتاج IL-1 α وانتاج بروتينات الطور الحاد، ويسهل توالد CD4 T.Cell ويحفز نمو وتمايز خلايا B.Cell.

واشار (Sergei I وآخرون، 2010) الى ان العلاجات الكيميائية تسبب نخرًا لخلايا الورم مما يؤدي الى طرح الحركيات الخلوية الموجودة داخلها ومن ضمنها IL-1 α مما يرفع من مستوياته في الدم، وسوف تؤثر بدورها على الخلايا السرطانية المتبقية فتسبب مقاومتها لدورات العلاج اللاحقة لدى مرضى سرطان الكبد، ووجود IL-1 α يسهل التصاق خلايا leukocyte بالخلايا الطلائية الوعائية.

وفي دراسة (Dejana وآخرون 1988)، فإن ارتفاع مستويات IL-1 α ناتجة عن إفراز الخلايا السرطانية له، كمحاولة من الخلايا السرطانية للالتصاق مع الخلايا البطانية الوعائية endothelial cells، إذ أثبتت دراسة (Dejana) أن زيادة تركيز IL-1 α في المجرى الدموي تعزز التصاق الخلايا السرطانية النقلية بجدران الخلايا البطانية الوعائية endothelial cells مما يعزز نمو الأورام النقلية (ورم ثانوي) في أماكن أخرى من الجسم، أي يعمل عامل نمو autocrine growth factor وهنا تكمن الخطورة في زيادة تركيز IL-1 α (Dejana وآخرون 1988)، (Kurzrock 2001).

وبينت دراسة (Guobin He, 2011) و (Sergei I وآخرون 2010)، أن سبب ارتفاع IL-1 α يعود لتحطم خلايا الكبد وتفتتها بسبب خلايا الورم فتسبب تحرر كميات إضافية من IL-1 α فيحفز خلايا Kupffer cell على إنتاج IL-6 من خلال تفعيل مسار NF-KB الذي يحدث طفرات في الخلايا الكبدية المجاورة مما يرفع من فرص تطور المرض .

في حين بينت دراسة (Wang وآخرون ، 2006) إلى أن ارتفاع مستويات IL-1 α تعود إلى إفراز الخلايا المناعية للجهاز المناعي الفطري Innate immune system المتواجدة في الورم وحولة مع حركات خلوية أخرى مثل IL-6 , TNF- α ، إذ تعمل على تكاثر وهجرة الخلايا السرطانية وتكون الأوعية الدموية للورم مما يؤدي إلى تطور للمرض.

2 - البين ابيضاضى 2 - Interleukin

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى وجود انخفاضٍ معنويٍّ بمستوى ($P < 0.001$) في مستويات IL-2 لدى مرضى سرطان الكبد الأولي مقارنةً بمجموعة السيطرة، إذ بلغت مستوياته (21.67 $\pm$ 124.70)، (38.33 $\pm$ 62.80) بيكوغرام /ملليتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (36.22 $\pm$ 84.00) بيكوغرام /ملليتر، وعند

مستوى معنوية ($P < 0.05$) مقارنة بمجموعة السيطرة، ولا توجد فروقات معنوية في مستويات

IL-2 بين مجاميع المرضى كما موضح في الجدول (4-1).

يعود انخفاض مستويات IL-2 الى ارتفاع مستوى IL-10، أذ تفرز خلايا الورم IL-10 لتعزيز تكون الاوعية الدموية للورم، فيؤثر IL-10 بالية التغذية الاسترجاعية السالبة على خلايا TH1 التي تفرز IL-2 فيقل مستواه في المصل (Macarthur وآخرون 2004)، وبالرجوع الى العلاقات الترابطية لم نحصل على علاقة ارتباط سلبية بين IL-10 و IL-2، كما موضح في الجدول (4-2).

ان ارتفاع مستويات انزيم ALP يخفض من مستويات IL-2، أذ اشارت نتائج الدراسة الى وجود علاقة ارتباط سالبة ($r = -0.234$) بين مستويات IL-2 وانزيم ALP، كما موضح بالجدول (4-2)، ان وجود السرطان يعد مؤشر لانخفاض مناعة الجسم ومنها انخفاض IL-2 وهذا يساعد على نمو السرطان وافرازه للكثير من الحركيات الخلوية التي تتخر خلايا الكبد مثل $TNF-\alpha$ فيرفع من مستويات انزيم ALP.

ان انخفاض مستويات IL-2 يؤدي الى انخفاض مستويات الالبومين، إذ بينت العلاقات الترابطية وجود علاقة ترابطية سلبية ($r = -0.187$) بين انخفاض مستويات IL-2 وانخفاض مستويات الالبومين كما موضح بالجدول (4-2)، يعد انخفاض IL-2 مؤشر لانخفاض مناعة الجسم وبانخفاض مناعة الجسم يساعد على نمو السرطان وزيادة تضرر الكبد فيقل انتاج الكبد من الألبومين، وهذا يتفق مع الكثير من الدراسات التي تشير الى انخفاض في تركيز IL-2 في مصل الدم للمرضى المصابين بسرطان الكبد مقارنة بمستواه في الاشخاص الطبيعيين (Abe, 2011) و (Balasa وآخرون، 2015) و (Macarthur وآخرون 2004).

من جانب آخر اشار (Macarthur وآخرون 2004) و (Balasa وآخرون، 2015)، ان سبب انخفاض مستويات IL-2 في مصل المرضى يعود الى استهلاك IL-2 من قبل NKC التي تتحفز لقتل الخلايا السرطانية.

بين (Sell and Max , 2001) ان سبب انخفاض مستوى IL-2 في مصل المرضى يعود الى ان IL-2 يشفر له بواسطة جين مفرد واحد يقع على الكروموسوم الرابع 28-4q26 بينما الكثير من الحركات الخلوية يشفر لها اكثر من جين، ويلعب IL-2 دوراً مركزياً ورئيسياً في تحفيز وتوالد الخلايا للمفاوية، كما تشير الدلائل الى امكانية استخدامه في معالجة بعض الامراض السرطانية من خلال زيادة السمية الخلوية للخلايا القاتلة الطبيعية وخلايا البلعم الكبير.

اشار (Abe، 2011)، ان سبب انخفاض تركيز IL-2 في المصل يعود الى حدوث تحمل للورم، لذا تكون خلايا CD4+ الخاصة بالورم ضعيفة او منخفضة الاستجابة المناعية لذا يكون انتاجها قليل من IL-2.

3- البين ابيضاضى 6 – Interleukin

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى احتمالية ($P < 0.01$) في مستويات IL-6 لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنةً بمجموعة السيطرة، إذ بلغت مستوياته (44.67 ± 216.07) ، (19.10 ± 44.20) بيكوغرام /ملليتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (39.20 ± 209.70) بيكوغرام /ملليتر وعند مستوى معنوية ($P < 0.01$) مقارنةً بمجموعة السيطرة. ولا توجد فروقات معنوية في مستويات IL-6 بين مجاميع المرضى كما موضح في الجدول (4-1).

يعود السبب في ارتفاع مستوى IL-6 الى الضرر الحاصل في الكبد، إذ بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاضاً في وظائف الكبد اعتماداً على قيم وظائف الكبد التي تناولتها الدراسة AST، ALT، ALP، الالبومين، البليروبين، التي بينت تغيراً في مستوياتها لدى المرضى، كما موضح في الجدول (1-4)، عندما تتحطم خلايا الكبد تتحرر العديد من الحركات الخلوية ومن ضمنها IL-6 بالإضافة الى افرازه من قبل الخلايا السرطانية، ويكون الكبد غير قادرٍ على ازالة المستويات العالية من الحركات الخلوية، لذا ان انخفاض القدرة الوظيفية للكبد المتمثلة بارتفاع مستويات انزيمات الكبد AST، ALT، ALP، وانخفاض الالبومين وارتفاع البليروبين الكلي تسبب ارتفاع مستويات IL-6، وبينت الدراسة وجود علاقات ترابطية ايجابية ($r = 0.299$)، ($r = 0.157$) بين ALT، AST، مع IL-6 على التوالي، كما موضح بالجدول (2-4)، اذ اشار (Porta وآخرون 2007) ان IL-6 يساهم في تنخر خلايا الكبد مما يرفع من تضرر الكبد وزيادة تحرر أنزيماته الى المجرى الدموي.

تفرز الخلية السرطانية IL-10 الذي يسبب تنخر لخلايا الكبد مسبباً تحرر محتوياتها من انزيمات وحركات خلوية مثل IL-6 الى المجرى الدموي وأشارت الدراسة الى وجود علاقة ترابطية ايجابية ($r = 0.011$) كما موضح بالجدول (2-4).

بينت دراسة (Macarthur وآخرون 2004)، ان IL-6 مهماً في آلية الدفاع ضد الالتهابات، وبين ان انزيمات الاكسدة الحلقية CoX-2 تعمل على تحفيز خلايا Th2 لإفراز IL-6، IL-10، تعمل هذه الحركات الخلوية على تثبيط افراز CoX-2، IL-2، بآلية التغذية الاسترجاعية السالبة، لذا بين ان سبب ارتفاع IL-6 يعود الى تحفيز الخلايا Th1 بفعل المواد المسرطنة او الالتهابات المزمنة، إذ تقوم بإفراز تركيز عالي من TNF-a، يقوم TNF-a بتنشيط

افراز انزيم CoX-2 ، أذ يعمل انزيم CoX-2 على تحفيز خلايا Th2 على انتاج IL-6 بتركيز عالي .

اشار (Porta وآخرون 2007)، ان IL-6 يحفز انتاج بروتينات الطور الحاد من الخلايا الكبدية، فضلاً عن ذلك قد يعمل كعامل نمو للكثير من الخلايا السرطانية وهنا تكمن خطورته في تطور المرض، ان تركيزه يزداد في الكثير من السرطانات ولاسيما في سرطان الكبد، وبوجود IL-6R على سطح الخلايا الكبدية سوف يحدث انتاجاً مستمراً له من قبل الخلايا السرطانية، ومن ثمَّ يزداد تركيزه في المصل، وان IL-6 يشترك في تضرر او تتخر الكبد، ووجد ان تركيزه يزداد بازدياد حجم الورم، ومن الممكن ان يقلل الموت المبرمج للخلايا السرطانية وذلك من خلال خفض التعبير لمستقبلات Ligand من على سطح الخلايا السرطانية وذلك لان Ligand تسبب الموت المبرمج للخلايا السرطانية، ويسبب خلل في وظيفة NKC ومن ثمَّ يكون IL-6 الية لهروب الورم من الرصد المناعي.

وبين (Kishimoto، 2010)، ان سبب ارتفاع IL-6 يعود الى انتاجه من قبل خلايا الورم، ويكون له دور في الكبح المناعي، إذ يؤثر على الخلايا T reg التي تقوم بإنتاج عالي للبروتين FoXp3 الذي يعمل على اسكات الكثير من خلايا التائية ومن ثمَّ يمنع بذلك امراض المناعة الذاتية ألا انه يسبب في نفس الوقت هروب الورم من الرص المناعي .

واشار كل من (Guobin وآخرون 2014) و(Park وآخرون 2010) و(Johnson وآخرون 2012) و(Sergia وآخرون 2010)، ان المستوى العالي من IL-6 في مراحل المرض الاولى يعود الى انتاجه من خلايا Kupffer Cell و Macrophage وفي المراحل المتقدمة من المرض يكون انتاجه من الخلايا السرطانية فضلاً عن الخلايا المناعية.

يعمل IL-6 المفرز من الخلايا السرطانية كعامل وقائي للعلاج الكيميائي، لزيادة مقاومة الخلايا السرطانية للعلاج، إذ وجد ان الخلايا السرطانية المقاومة للعلاج الكيميائي تنتج نسبة عالية من IL-6 في الوسط الزرعى للخلايا السرطانية، ووجد ان IL-6 هو امر حاسم لانتشار خلايا الورم من الكبد الى اماكن اخرى في الجسم، ويعود ارتفاع تركيز IL-6 الى التعبير عنه من قبل G allele فقط في سرطان الكبد دون غيره من السرطانات، في حين قد يعود ارتفاع IL-6 الى ارتفاع تركيز IL-1 α و TNF- α اللذان يؤثران على مسار NF-kB في خلايا Kupffer cell فيقوم هذا المسار بالتشجير لإنتاج IL-6 الذي بدوره ينشط مسارات عدة منها : مسار PI3-K الذي يقوم بإنتاج AKT ومسار JAK الذي يقوم بإنتاج STAT1,2,3 ومسار P38 يقوم بإنتاج TOPK ومسار JNK الذي يقوم بإنتاج AP-1 وجميع هذه المسارات ومنتجاتها تجعل الورم ينتشر ويتوالد وتتكون له اوعيه دموية تغذية ومن ثم تطور سرطان الكبد وسرطان الاقنية الصفراوية (Naugler وآخرون 2007) و (Johnson وآخرون 2012).

في حين بين (Wang وآخرون 2006)، ان السبب في ارتفاع IL-6 يعود الى انتاجه من قبل الخلايا المناعية المحيطة والمتواجدة في الورم حيث ترشح الكثير من الخلايا المناعية حول وداخل الورم، وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي تشير الى زيادة في تركيز IL-6 في مصل الدم للمرضى المصابين بسرطان الكبد الاولي والثانوي مقارنة بمستواه في الاشخاص الطبيعيين (Wang وآخرون 2006) و (Johnson وآخرون 2012) و (Sergia وآخرون 2010).

4- البين ابيضاضي ١٠ Interleukin – 10

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P < 0.001$) في مستويات IL-10 لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمجموعة السيطرة، اذ بلغت مستوياته (42.67 ± 288.03) ، (28.67 ± 87.20) بيكوغرام /ملليتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (35.84 ± 167.40) بيكوغرام /ملليتر، وعند مستوى معنوية ($P < 0.05$) مقارنة بمجموعة السيطرة. و توجد فروقات معنوية عند مستوى معنويه ($P < 0.05$) بين مجاميع مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي اذ بلغت مستوياته (42.67 ± 288.03) ، (35.84 ± 167.40) بيكوغرام /ملليتر على التوالي، كما موضح في الجدول (1-4).

يعود السبب في ارتفاع مستوى IL-10 الى الضرر الحاصل في الكبد، إذ بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض القدرة الوظيفية للكبد اعتماداً على قيم وظائف الكبد التي تناولتها الدراسة وبيّنت تغييراً في مستوياتها لدى المرضى، لذا يكون الكبد غير قادرٍ على ازالة المستويات العالية من الحركيات الخلوية، كما ان سبب ارتفاع IL-10 يعود الى ارتفاع مستويات انزيمات ALP، ALT، والبليروبين الكلي، اذ بينت نتائج الدراسة وجود علاقات ترابطية ايجابية بين ALP، ALT، والبليروبين الكلي، مع IL-10، كما موضح بالجدول (2-4).

ان ارتفاع مستوى IL-10 قد يعود الى انخفاض مستوى IL-2، والذي يعد انخفاضه مؤشراً على انخفاض مناعة الجسم عند مرضى السرطان، اذ ان انخفاض IL-2 يقلل من تحفيز الخلايا المناعية التي تقضي على السرطان، وبالتالي ارتفاع عدد الخلايا السرطانية في الورم و التي بدورها تستمر بإفراز IL-10 مما يرفع مستوياته في المصل (Blater, 1015)

من جانب اخر ان ارتفاع مستوى IL-10 يعود الى ارتفاع مستوى IL-1 α ، يؤثر IL-1 α على مسارات عديدة منها NF-kB الذي يشفر لإنتاج الكثير من الحركيات الخلوية ومن ضمنها

IL-10، وبينت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ترابطية ايجابية بين مستوى IL-10 و IL-1 α كما موضح بالجدول (2-4).

بينت دراسة (Beckebaum وآخرون، 2004) و (السيد والآخرس، 2009)، ان السبب في ارتفاع تركيز IL-10 يعود الى افرازه من قبل الخلايا الشجرية Dendritic cell، إذ توجد علاقة ايجابية بين عدد الخلايا الشجرية وتركيز IL-10 في مصل مرضى سرطان الكبد، ووجدت علاقة ايجابية ايضا بين حجم الورم وتركيز IL-10، وربما يعود ارتفاع تركيزه الى خلايا الورم نفسه، إذ ان الورم له عدة استراتيجيات للهروب من الرصد المناعي منها افراز IL-10، و يعود ارتفاع تركيز IL-10 الى انتاجه من قبل الخلايا المناعية، إذ يقوم الورم بإنتاج عدد من العوامل مثل TGF-B، TNF- α ، Prostaglandin E2 التي تنشط وتحفز الخلايا المناعية على انتاج IL-10 الى المجرى الدموي وهنا يعمل IL-10 كعامل نمو او عامل مساعد لتحفيز ونمو خلايا السرطان، او قد يمنح IL-10 تحملا للورم بدلا من الاستجابة المناعية ضده، ويزيد من التروية الدموية للورم اي عامل مهم لتكون الاوعية الدموية للورم مما يزيد من تطور ونمو للورم .

في حين بينت دراسة (Tahir Khan وآخرون 2015)، ان IL-10 له اهمية في تطور الورم وهروبه من الرصد المناعي وله دور في زيادة تروية الورم، لذا قد يعود زيادة تركيزه الى انتاجه من قبل خلايا (PCNSLs) primary central nervous system lymphomas وكذلك خلايا (PVRLs) primary vitreoretinal lymphomas وكذلك خلايا B-cell، وان انتاج IL-10 يعود الى عدد من المواقع على الكروموسوم ومنها - 1082 G allele، 592، -819 وهناك موقع اخر هو A allele-1082 عندما تحفز الخلية يتم انتاجه من جميع هذه المواقع لذا يكون سبباً في ارتفاع تركيز IL-10، وعند افرازه IL-10 يشغل الكثير من

المستقبلات على سطح الخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا التائية السمية فيمنع هذه الخلايا المناعية من التعرف على الورم، وكذلك يقوم بالتحكم بإفراز بعض عوامل الجذب الكيميائي وبعض الحركات الخلوية فيخفض إفرازها فيمنع أو يقلل من وصول الخلايا المناعية إلى الورم.

أشار (Macarthur وآخرون 2004)، إلى أن ارتفاع مستوى IL-10 يعود إلى TNF- α الذي يفرز من قبل خلايا TH1، فيرتفع مستواه (وهذا اتفق مع الدراسة الحالية من حيث ارتفاع تركيز TNF- α) فينشيط إفراز CoX-2 الذي يحفز بدوره خلايا TH2 على إنتاج IL-10 الذي يكون له دور إيجابي في تطور الورم، وبالرجوع إلى العلاقات الترابطية لم يتم الحصول على علاقة ارتباط إيجابية بين IL-10 و TNF- α .

وذكر (Johanson وآخرون ، 2012) ، (Porta وآخرون 2007)، أن ارتفاع تركيز IL-10 قد يعود إلى تفعيل مسار (P38-MAPK) Mitogen – Activated protein Kinase، إذ يحفز هذا المسار استنساخ وترجمة IL-10 ، وفي هذه الحالة فإن IL-10 يمتلك نوعين من الحماية للورم الأول: هو زيادة مقاومة الخلايا الورمية للعلاج الكيميائي، والثاني: يحمي الخلية السرطانية من الموت المبرمج وذلك من خلال خفض التعبير Ligand Receptors على سطح الخلايا السرطانية.

5- عامل النخر الورمي الفا TNF- α

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P<0.01$) في مستويات TNF- α لدى مرضى سرطان الكبد الأولي مقارنةً بمستواه في مجموعة السيطرة، أذ بلغت مستوياته (41.67 ± 123.78) ، (27.25 ± 68.52) بيكوغرام / مليلتر على التوالي، في حين وجد ارتفاعاً عند مستوى معنويّه ($P<0.001$) لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي، إذ بلغت مستوياته (46.11 ± 287.15) بيكوغرام / مليلتر، مقارنةً بمجموعة السيطرة. و توجد

فروقات معنوية عند مستوى معنويه ($P<0.05$) في مستويات TNF- α بين مجاميع مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي، اذ بلغت مستويات TNF- α في سرطان الكبد الاولي والثانوي (41.67±123.78)، (46.11±287.15) بيكوغرام /ملليتر على التوالي، وكما موضح في الجدول (1-4).

يعود السبب في ارتفاع مستوى TNF- α الى الضرر الحاصل في الكبد، إذ بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض القدرة الوظيفية للكبد اعتماداً على قيم وظائف الكبد التي تناولتها الدراسة التي بينت تغيراً في مستوياتها لدى المرضى، بالإضافة الى تحرر الكثير من الحركات الخلوية نتيجة تحطم الخلايا الكبدية، لذا يكون الكبد غير قادرٍ على ازالة المستويات العالية من الحركات الخلوية، كما ان سبب ارتفاع TNF- α يعود الى ارتفاع مستويات انزيمات AST، ALT، ALP، اذ بينت النتائج وجود علاقات ترابطية ايجابية بين ALT، AST، مع TNF- α ، كما موضح بالجدول (2-4)، اذ يكون TNF- α دور في تتخر خلايا الكبد، إذ بين (Guobin He; Michael Karin, 2011) ان خفض مستقبلات TNF- α R سوف يخفض من تضرر الخلايا الكبدية بشكل كبير، وبارتفاع تركيز TNF- α سوف يرفع من تتخر خلايا الكبد وزيادة تحرر انزيماته الى المجرى الدموي.

وزيادةً على ذلك بينت نتائج الدراسة الحالية ان السبب في ارتفاع TNF- α يعود الى ارتفاع تركيز IL-1 α ، اذ يؤثر IL-1 α على مسار NF-kB الذي يشفر لإنتاج TNF- α ، وبالرجوع الى العلاقات الترابطية بينت الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط ايجابية بين TNF- α و IL-1 α ، كما موضح بالجدول (2-4).

في حين اشار (Wei Wang و Budhu 2006) و (Wang وآخرون 2006)، (Balasa وآخرون 2015)، ان الخلايا الكبدية تحتوي على عدة انواع من المستقبلات تعود

لأنواع مختلفة من الحركات الخلوية ومنها ($TNF-\alpha, IL-6, IL-1\alpha$)، ويحتوي الكبد على الكثير من الخلايا المناعية لذا يعود سبب ارتفاع تركيز $TNF-\alpha$ الى الخلايا المناعية الموجودة داخل الورم المتمثلة بخلايا Kupffer cell وحول الورم المتمثلة بخلايا Macrophage .

من التأثيرات المهمة لارتفاع تركيز $TNF-\alpha$ هو تحفيز التراكم ROS (Reactive oxygen species) في الخلايا الطلائية المجاورة للورم ومن ثمّ هذا التراكم يسبب تلف DNA الخاص بالخلية الطلائية ومن ثمّ تتحول الى خلايا طافره، وتبدأ مرحلة تكون الورم، ويلعب كل من الحركات الخلوية التالية دور في عملية تكون الورم ($TNF-\alpha, IL-6, IL-1\alpha, IL-23$) ، (Sergei وآخرون 2010).

ذكر (Ya-Yu Wang وآخرون 2003)، ان سبب ارتفاع تركيز $TNF-\alpha$ يكون ناتج من افراز خلايا Pit cell (Hepatic natural killer cell) ، ومن جانب اخر وجد ان هناك ارتفاعاً في نسبة هرمون النمو والانسولين في مرضى سرطان الكبد وهذا قد يكون سبباً في زيادة تركيز $TNF-\alpha$ ، وقد تم الاستنتاج على ان $TNF-\alpha$ يشترك في تطور مرحلة المرض وذلك من خلال ارتفاع تركيزه في تقدم مرحلة المرض، يتفق هذا مع الكثير من الدراسات التي تشير الى زيادة في تركيز $TNF-\alpha$ في مصل الدم للمرضى المصابين بسرطان الكبد الاولي والثانوي مقارنة بمستواه في الاشخاص الطبيعيين (Park وآخرون 2010).

4-2: المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي.

1- انزيم AST

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاع معنوي بمستوى ($P < 0.001$) في مستويات AST لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمجموعة السيطرة، أذ بلغت مستوياته (4.33 ± 36.60) ، (1.78 ± 16.75) وحدة دولية / لتر على التوالي، في حين بلغت

مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (7.34 ± 52.35) وحدة دولية / لتر وعند مستوى معنوية ($P < 0.001$) مقارنة بمجموعة السيطرة، و توجد فروقات معنوية عند مستوى معنويه ($P < 0.05$) في مستويات AST بين مجاميع المرضى، اذ بلغت مستويات AST في سرطان الكبد الاول والثانوي (4.33 ± 36.60)، (7.34 ± 52.35) وحده دولية/ لتر، على التوالي كما موضح في الجدول (3-4).

جدول (3-4) مستويات انزيمات AST,ALT,ALP والالبومين ، واللبيروبين في مصل دم مرضى سرطان الكبد الاول والثانوي مقارنة بالسيطرة .

المتغيرات			المتوسط الحسابي $\pm$ الانحراف المعياري
مجموعة السيطرة	سرطان الكبد الاول	سرطان الكبد الثانوي	
أنزيم AST U/L	1.78 ± 16.75	4.33 ± 36.60 ***a	7.34 ± 52.35 ***b
أنزيم ALT U/L	2.25 ± 21.50	6.34 ± 63.10 ***	2.11 ± 60.95 ***
أنزيم ALP U/L	8.37 ± 90.65	13.70 ± 182.30 ***a	9.33 ± 136.30 **b
Albumin g/dL	0.22 ± 4.04	0.23 ± 3.13 ***	0.30 ± 2.96 ***
Total bilirubin mg/dL	0.21 ± 0.97	0.63 ± 1.84 **	0.57 ± 2.09 **
Bilirubin direct mg/dL	0.08 ± 0.45	0.11 ± 0.46	0.09 ± 0.48
Bilirubin indirect mg/dL	0.18 ± 0.54	0.18 ± 1.38 **	0.22 ± 1.62 **

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$ ،

a,b فرق معنوي عن مجموعة سرطان الكبد الاول والثانوي عند مستوى $p < 0.05$

ان ارتفاع مستويات انزيم AST ناتج عن تحطم الخلايا الكبدية، اذ بينت الدراسة تضرراً

في الكبد اعتماداً على وظائف الكبد المتمثلة AST، ALT، ALP، البليروبين والالبومين، اذ

تغيرت مستوياتها لدى المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما موضح بالجدول (3-4)، اذ

يكون تحطم الخلايا الكبدية نتيجة افراز الخلايا السرطانية الكثير من الحركات الخلوية أهمها

IL-10، TGF-B، (Chen وآخرون ، 2008)، التي تعمل على تدمير خلايا الكبد الطبيعية و طرح انزيماتها الى المجرى الدموي.

ومن اسباب ارتفاع انزيم AST هو ارتفاع مستويات $TNF-\alpha$ ، اذ بينت الدراسة وجود علاقة ارتباط ايجابية بين AST، $TNF-\alpha$ ($r = 0.254$)، كما موضح بالجدول (2-4)، إذ بين (Guobin He and Michael Karin، 2011) بدراسته، ان $TNF-\alpha$ له دوراً في تتخر وتضرر الخلايا الكبدية، إذ وجد ان نقص مستقبلات $TNF-\alpha R$ من على سطح الخلايا الكبدية يقلل من تضرر الكبد بشكل كبير، هذا وبينت نتائج الدراسة وجود ارتفاع بمستويات $TNF-a$ لدى المرضى، الذي يزيد من تضرر الخلايا الكبدية ومن ثمّ زيادة تحرر انزيمات الكبد ومن ضمنها AST الى المجرى الدموي.

ومن اسباب ارتفاع انزيم AST هو ارتفاع مستويات IL-6 المفرز من الخلايا السرطانية، اذ بينت الدراسة وجود علاقة ارتباط ايجابية بين AST، IL-6 ($r = 0.299$)، كما موضح بالجدول (2-4)، وبين (Porta وآخرون 2007)، في دراسته ان IL-6 المفرز من الخلايا السرطانية يشترك في تضرر وتتخر الخلايا الكبدية لكون امتلاك الخلايا الكبدية على سطوحها الكثير من مستقبلات IL-6R، لذا بينت نتائج الدراسة وجود زيادة معنوية في مستويات IL-6، وهذا يؤدي الى تحطم خلايا الكبد وتحرر انزيمات الكبد ومن ضمنها AST الى المجرى الدموي. من جانب اخر اشار (Kaplan، وآخرون 2003)، و (Daze، 2007)، أن السبب في ارتفاع مستويات انزيمات AST عند المصابين بسرطان الكبد الاولي والثانوي يرجع الى ان إنزيم AST من الإنزيمات الواسعة الانتشار في أنسجة الجسم، ولكن يتركز وجوده بصورة رئيسة في عضلة القلب، و بتراكيز عالية في الكبد والعضلات الهيكلية والكلية، وهذا يفسر الزيادة الحاصلة في مستويات تركيز AST في سرطان الكبد الاولي عن الثانوي.

واشار(Madhuri،2014)، ان انزيم AST يتواجد في الماييتوكوندرىا في الخلايا البرنكيمية للكبد، لذا في حالات تحطم الانسجة نتيجة الإصابة الحادة تتحرر كميات كبيرة من الانزيم من الماييتوكوندرىا الى المجرى الدموي.

وبين (Chen وآخرون ، 2008)، ان ارتفاع AST ناتج عن التعبير المفرط للخلايا السرطانية لهذه الانزيمات، و يعزى السبب الرئيس لهذه الزيادة هو انخفاض قدرة الكبد على تخليص الجسم من المستويات العالية من الانزيمات، بسبب تحطم خلايا الكبد والميتوكوندرىا، وكلما تقدمت مرحلة المرض زادت مستويات هذه الانزيمات، و يعود سبب زيادة الانزيمات في سرطان الكبد الثانوي مقارنة مع الاولي هو اصابة عضوين في نفس الوقت الكبد مع عضو اخر، ومن ثمّ سوف تتحرر كميات اكبر من الانزيمات الى المجرى الدموي، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع (Cervello وآخرون ، ؛ Chen-Sheng Lin 2005 وآخرون 2008 ، وEl-Folly وآخرون 2010) من حيث ارتفاع تركيز انزيم AST في مرضى سرطان الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة.

2- انزيم ALT

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P<0.001$) في مستويات ALT لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة، أذ بلغت مستوياته (63.10 ± 6.34) ، (21.50 ± 2.25) وحدة دولية / لتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (60.95 ± 2.11) وحدة دولية / لتر وعند مستوى معنوية ($P<0.001$) مقارنة بمجموعة السيطرة، ولا توجد فروقات بين مجاميع المرضى كما موضح في الجدول (3-4).

ان ارتفاع مستوى انزيم ALT ناتج عن ضرر الخلايا الكبدية، اذ بينت الدراسة تضرراً في الكبد اعتماداً على وظائف الكبد المتمثلة AST، ALT، ALP، البليروبين والالبومين، أذ تغيرت مستوياتها لدى المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما موضح بالجدول (3-4)، تتحطم الخلايا الكبدية نتيجة افراز الخلايا السرطانية العديد من الحركيات الخلوية أهمها IL-10، TGF-B، التي تعمل على تدمير خلايا الكبد الطبيعية وطرح انزيماتها الى المجرى الدموي، وبينت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط ايجابية بين ALT، IL-10 ($r = 0.160$)، كما موضح بالجدول (2-4).

بين (Guobin He and Michael Karin، 2011) بدراسته، ان $TNF-\alpha$ له دوراً في تنخر وتضرر الخلايا الكبدية، هذا وبينت الدراسة الحالية وجود ارتفاع بمستوى $TNF-\alpha$ لدى المرضى، الذي يزيد من تضرر الخلايا الكبدية وبالتالي زيادة تحرر انزيمات الكبد ومن ضمنها ALT الى المجرى الدموي، اذ بينت العلاقات الترابطية وجود علاقة ترابطية ايجابية بين ALT، $TNF-a$ ($r = 0.202$)، كما موضح بالجدول (2-4).

بين (Porta وآخرون 2007)، ان IL-6 المفرز من الخلايا السرطانية يشترك في تضرر وتنخر الخلايا الكبدية، وبينت نتائج الدراسة الحالية وجود زيادة معنوية في مستوى IL-6، وهذا يؤدي الى تحطم خلايا الكبد وتحرر انزيمات الكبد ومن ضمنها ALT الى المجرى الدموي، اذ توجد علاقة ترابطية ايجابية بين مستوى ALT، وIL-6 ($r = 0.157$)، كما موضح بالجدول (2-4).

اشار (Al-Shammaa وآخرون 2011)، ان انزيم ALT يتواجد في أنسجة مختلفة من جسم الإنسان، ولكن يكثر تواجده في الكبد، وعند إصابة خلايا الكبد بأي ضرر فإن ذلك

يؤدي إلى إفراز ALT بكثرة إلى الدورة الدموية، فضلاً عن الكبد فإنه يتوزع في أنسجة أخرى إذ يتواجد بنسبة قليلة في الكلية، والقلب، وخلايا العضلة الهيكلية.

ذكر (Hall and Cash، 2012)، أن انزيم ALT ترتفع نسبته عند استخدام بعض الأدوية وخصوصاً العلاجات الكيميائية المستخدمة لعلاج الخلايا السرطانية، كون أن هذه العلاجات تقتل الخلايا الطبيعية والسرطانية في نفس الوقت وتسبب ضرراً للأنسجة، أو خلال ممارسة التمرينات الرياضية العنيفة.

اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع (Cervello وآخرون 2005; Chen-Sheng Lin وآخرون 2008 و El-Folly وآخرون 2010) من حيث ارتفاع تركيز انزيم ALT في مرضى سرطان الكبد مقارنة مع مجموعة السيطرة.

3- انزيم ALP

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P < 0.001$) في مستويات ALP لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمجموعة السيطرة، إذ بلغت مستوياته (13.70 ± 182.30)، (8.37 ± 90.65) وحدة دولية / لتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (9.33 ± 136.30) وحدة دولية / لتر وعند مستوى معنوية ($P < 0.01$) مقارنة بمجموعة السيطرة ، و توجد فروقات معنوية عند مستوى معنويه ($P < 0.05$) في مستويات ALP بين مجاميع مرضى سرطان الكبد الاولي والثانوي إذ بلغت مستويات ALP في سرطان الكبد الاولي والثانوي (13.70 ± 182.30)، (9.33 ± 136.30) وحده دولية/ لتر، على التوالي كما موضح في الجدول (3-4).

ان ارتفاع مستوى انزيم ALP ناتج عن ضرر الخلايا الكبدية، اذ بينت الدراسة تضرراً في الكبد اعتماداً على وظائف الكبد، إذ تغيرت مستوياتها لدى المرضى مقارنة مع مجموعة

السيطرة، كما موضح بالجدول (3-4)، تتحطم الخلايا الكبدية نتيجة افراز الخلايا السرطانية الكثير من الحركات الخلوية أهمها IL-10، TGF-B، التي تعمل على تدمير خلايا الكبد الطبيعية وطرح انزيماتها الى المجرى الدموي، وبينت نتائج الدراسة الحالية وجود علاقة ارتباط ايجابية بين ALP، IL-10 ($r = 0.190$)، كما موضح بالجدول (2-4).

بين (Guobin He and Michael Karin، 2011) بدراسته، ان $TNF-\alpha$ له دوراً في تتخر وتضرر الخلايا الكبدية، أذ بينت الدراسة الحالية وجود ارتفاع بمستوى $TNF-\alpha$ لدى المرضى، الذي يزيد من تضرر الخلايا الكبدية ومن ثم زيادة تحرر انزيمات الكبد ومن ضمنها ALP الى المجرى الدموي، اذ بينت العلاقات الترابطية وجود علاقة ترابطية ايجابية بين ALP، $TNF-\alpha$ ($r = 0.121$)، كما موضح بالجدول (2-4).

بينت نتائج الدراسة ارتفاع مستوى البليروبين الكلي لدى المرضى مقارنةً مع مجموعة السيطرة كما موضح في الجدول (3-4)، الذي يعد مؤشراً على انخفاض الوظيفة الاخراجية للكبد نتيجة لتضرر الخلايا الكبدية، وبزيادة تضرر الكبد يزداد تحرر انزيمات الكبد ومن ضمنها ALP ويزداد البليروبين الكلي، وبالرجوع الى العلاقات الترابطية تم الحصول على علاقة ترابطية ايجابية بين البليروبين الكلي، ALP ($r = 0.172$)، كما موضح بالجدول (4-4).

جدول (4-4) العلاقة بين المتغيرات الكيموحيوية في مرضى سرطان الكبد.

المتغيرات	قيم العلاقات	AST	ALT	ALP	albumin	BT	BD	BU
AST	R	1	-0.052	-0.195	-0.199	-0.019	0.006	-0.016
	p-value		0.671	0.105	0.099	0.876	0.962	0.898
ALT	R	-0.052	1	0.027	-0.095	.254*	-0.036	.273*
	p-value	0.671		0.824	0.436	0.034	0.770	0.022
ALP	R	-0.195	0.027	1	-0.058	0.172*	-0.119	0.109
	p-value	0.105	0.824		0.632	0.052	0.328	0.368
Albumin	R	-0.199	-0.095	-0.058	1	0.040	0.014	0.037
	p-value	0.099	0.436	0.632		0.743	0.907	0.762
BT	R	-0.019	.254*	0.172*	0.040	1	.295*	.949**
	p-value	0.876	0.034	0.052	0.743		0.013	0.000

-0.020	1	.295*	0.014	-0.119	-0.036	0.006	R	BD
0.868		0.013	0.907	0.328	0.770	0.962	p-value	
1	-0.020	.949**	0.037	0.109	.273*	-0.016	R	BU
	0.868	0.000	0.762	0.368	0.022	0.898	p-value	

* فرق معنوي عند مستوى $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$

وذكر (Bishop وآخرون 2005؛ Al-Hamadan, 2010)، ان القسم الاكبر من الانزيم الموجود في الدم يأتي من النسيج العظمي والكبد، ولهذا فإن ارتفاع نشاط هذا الانزيم غالباً ما يرجع الى مرض احد هذين العضوين.

وذكر (Chen وآخرون ، 2008)، كلما تقدمت مرحلة المرض زادت مستويات هذه الانزيمات، وقد يعود سبب زيادة الانزيمات في سرطان الكبد الثانوي مقارنة مع الاولي هو اصابة عضوين في نفس الوقت وبالتالي سوف تتحرر كميات اكبر من الانزيمات الى المجرى الدموي، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع (Cervello وآخرون 2005؛ Chen-Sheng Lin وآخرون 2008 و El-Folly وآخرون 2010) من حيث ارتفاع ALP في مرضى سرطان الكبد عن السيطرة.

4- الالبومين

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود انخفاضٍ معنويٍّ بمستوى ($P < 0.001$) في مستويات الالبومين لدى مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمجموعة السيطرة، أذ بلغت مستوياته....
(0.23 ± 3.13)، (0.22 ± 4.04) ملغم / ديسيلتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (0.30 ± 2.96) غم / ديسيلتر ، وعند مستوى معنوية ($P < 0.001$) مقارنة بمجموعة السيطرة ، ولا توجد فروقات معنوية بين مجاميع المرضى، كما موضح في الجدول (3-4).

ان انخفاض مستويات الالبومين يعود الى ارتفاع مستويات $TNF-\alpha$ في مصل مرضى سرطان الكبد، أذ انه سوف يسبب ضررا في خلايا الكبد ويخفض من قدرة الكبد على انتاج

الألبومين، مما يسبب انخفاض مؤشرات سوء التغذية ومنها الألبومين في مصل مرضى سرطان الكبد، وبالرجوع الى العلاقات الترابطية بينت الدراسة وجود علاقة ارتباط سلبية بين $TNF-\alpha$ والألبومين ($r = 0.190$)، كما موضح بالجدول (2-4).

ان ارتفاع $TNF-\alpha$ يثبط من وظيفة الخلايا الكبدية لتخليق الألبومين، كما ان ارتفاع مستويات $TNF-\alpha$ وانخفاض مستويات الألبومين يؤثر الى حالة سوء التغذية لدى المرضى (Ya-Yu Wang، وآخرون 2003) و (Kurzrock 2001) و (El-Folly وآخرون 2010، Chen-Sheng Lin وآخرون 2008) .

ان انخفاض مستوى الألبومين يعود الى ارتفاع مستويات IL-10، اذ يعمل الاخير على تتخر وتضرر خلايا الكبد وانخفاض القدرة الانتاجية للكبد على انتاج الألبومين وبالرجوع الى العلاقات الترابطية وجدت علاقة ايجابية بين الألبومين و IL-10 ($r = 0.130$)، كما موضح بالجدول (2-4).

5- البليروبين

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P < 0.01$) في مستويات البليروبين الكلي لدى مرضى سرطان الكبد الاولى مقارنة بمجموعة السيطرة، أذ بلغت مستوياته (0.63 ± 1.84)، (0.21 ± 0.97) ملغم / ديسيلتر على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان الكبد الثانوي (0.57 ± 2.09) ملغم / ديسيلتر وعند مستوى معنوية ($P < 0.01$) مقارنة بمجموعة السيطرة، ولا توجد فروقات بين مجاميع المرضى، في حين بينت النتائج عدم وجود فرقٍ معنويٍّ في مستويات البليروبين المباشر لدى مرضى سرطان الكبد الاولى والثانوي مقارنة بمجموعة السيطرة، ولا توجد فروقات معنوية بين مجاميع المرضى، و أشارت النتائج الى وجود ارتفاعٍ معنويٍّ بمستوى ($P < 0.01$) في مستويات البليروبين غير المباشر لدى

مرضى سرطان الكبد الاولي مقارنة بمجموعة السيطرة، أذ بلغت مستوياته (0.18 ± 1.38)،
(0.18 ± 0.54) ملغم / ديسيلتر، على التوالي، في حين بلغت مستوياته لدى مرضى سرطان
الكبد الثانوي (0.22 ± 1.62) ملغم / ديسيلتر وعند مستوى معنوية ($P < 0.01$) مقارنة
بمجموعة السيطرة ، ولا توجد فروقات بين مجاميع المرضى كما موضح في الجدول (3-4).

هناك انخفاض في قدرة الكبد على اخراج وطرح البليروبين، اذ بينت النتائج وجود ارتفاع
في مستوى البليروبين الكلي، وارتفاع في مستوى البليروبين غير المرتبط، وارتفاع في انزيمات
الكبد AST، ALT، ALP، وانخفاض في مستوى الالبومين، وهذه النتائج تؤكد انخفاض
وظيفة الكبد، وبين (2005, Waetzig, and Herdegen)، ان ارتفاع نسبة البليروبين يدل
على خلل في الإزالة للبليروبين من المصل وخلل في ربط البليروبين مع glucoronate، نتيجة
الضرر في خلايا الكبد نتيجة السرطان، الذي يهاجم خلايا الكبد الطبيعية، بحيث تكون غير
قادرة على تخليص الجسم من البليروبين الكلي بنوعيه البليروبين غير المباشر (غير المرتبط)،
والمباشر المرتبط بحامض الكلوكورونك، بسبب عدم قدرة العديد من خلايا الكبد على ربط
البليروبين غير المرتبط مع حامض الكلوكورونك وتخليص المجرى الدموي منه، وهذا الضرر
يؤدي الى تسرب البليروبين غير مرتبط الى المجرى الدموي ومن ثم ارتفاع نسبة البليروبين الكلي
في المجرى الدموي، وبالرجوع الى العلاقات الترابطية وجدت علاقة ارتباط ايجابية بين انخفاض
وظيفة الكبد المتمثلة بارتفاع ALT، ALP، وبين ارتفاع نسبة البليروبين الكلي ($r = 0.254$)،
($r = 0.172$) على التوالي، ووجود علاقة ارتباط ايجابية بين البليروبين الكلي والبليروبين غير
المرتبط، والمرتبط ($r = 0.949$)، ($r = 0.295$)، كما موضح بالجدول (4-4).

اشار (العلوي، 2014)، ان ارتفاع مستوى تركيز البليروبين الكلي وغير المرتبط الى
تحطم خضاب الدم Hemoglobin بعد تكسر كريات الدم الحمراء وانتهاء فترة حياتها، اذ يتحلل

الهيموكلوبين الى بروتين globin الذي يتم تحلله الى الحوامض الامينية الاساسية ويتم استخدامها مرة اخرى، اما الهيم heam يتحول الى حديد biliverdin ويتحول biliverdin الى unconjugated bilirubin (UCB) بواسطة hemoxy genase، وهناك عوامل داخلية وخارجية تعمل على زيادة مستوى البليروبين غير المرتبط مثل الادوية ونقص G6PDH وكذلك نقص الالبومين الذي يرتبط بالبليروبين، ان البليروبين الحر غير المرتبط له القدرة على اختراق او عبور غشاء الخلية الدهني المغلفة للأعصاب فيسبب neurotoxicity التسمم العصبي، يتجه البليروبين غير المرتبط الى الكبد و يرتبط مع حامض الكلوكورنيك Glucuronic acid بواسطة الانزيمات الناقلة uridine diphosphate glucouridine transferase (UDPGT) وتحولها الى الشكل غير السام وهو الشكل المرتبط الذي يسمى بالبليروبين المباشر ليتحول الى ثنائي كروونات البيلروبين Bilirubin Diglucuronide القابل للذوبان في الماء ثم يخرج من الكبد الى القنوات الصفراوية ومنها الى الخارج، يحصل زيادة في مستوى البيلروبين في امراض الكبد وانسداد القنوات الصفراوية وعند تكسر خلايا الدم الحمراء بشكل كبير.

وزيادة على ذلك فإن ارتفاع نسبة البليروبين الكلي يعود الى النقص الحاصل في نسبة بروتين الالبومين وهذا ما أكدته الدراسة الحالية من خلال نقص بروتين الالبومين في المصل الا انه لم يتم الحصول على علاقة ارتباط ايجابية بينهما، فضلاً عن ذلك ان سبب ارتفاع البليروبين الكلي يعود الى انسداد القنوات الصفراوية نتيجة الورم بحيث يضغط على القنوات فيسبب انغلاقها، مما يؤدي الى عدم تصريف عصارة الصفراء من قنوات الصفراء الى كيس الصفراء، وهذا يتفق مع الكثير من الدراسات التي تشير الى وجود فرق معنوي في تركيز البليروبين في مصل الدم لمرضى سرطان الكبد، (El-Folly وآخرون 2010،

Chen-Sheng Lin وآخرون (2008)، (Yue Wang، وآخرون 2003 ، Ya-Yu Wang، وآخرون 2003).

3-4 المتغيرات الحياتية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الثانوي قبل وبعد العلاج .

1 - المتغيرات المناعية

أشارت نتائج الدراسة الى عدم وجود فروقات معنوية في مستويات IL-6، IL-2، IL-1 α ، IL-10، في حين أظهرت مستويات TNF- α انخفاضا معنويا بمستوى احتمالية ($p < 0.01$) في مصل الدم للمرضى المصابين بسرطان الكبد الثانوي بعد العلاج مقارنة بمستواه قبل العلاج إذ بلغت مستوياته، (13.87 ± 133.20)، (46.11 ± 287.15) بيكوغرام /ملليتر على التوالي وكما موضح في الجدول (4-5)، ان سبب انخفاض مستوى TNF- α في مرحلة بعد العلاج الى تتخر الخلايا السرطانية بفعل العلاج الكيميائي من جانب، وضعف الجهاز المناعي من جانب اخر بسبب سمية العلاج على الخلايا المناعية وغير المناعية، و عند تتخر الخلايا السرطانية بفعل العلاج سوف تطلق محتوياتها بالقرب من الخلايا السرطانية المجاورة، ومن ثم يكون لها دور سلبي على صحة المريض، إذ تعزز مقاومة الخلايا السرطانية المتبقية للعلاج الكيميائي (Sergei وآخرون 2010).

2 - المتغيرات الكيموحيوية

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى عدم وجود فروقات معنوية في مستويات ALT، AST، ALP، البليروبين الكلي، البليروبين المباشر، في حين أظهرت مستويات الالبومين انخفاضا

معنويا بمستوى احتمالية ($p < 0.001$)، أذ بلغت مستوياته (0.21 ± 2.23)، (0.13 ± 2.96) ملغم / ديسيلتر، وانخفاضا معنويا بمستويات البليروبين غير المباشر بمستوى احتمالية ($p < 0.05$) أذ بلغت مستوياته (0.33 ± 0.92)، (0.22 ± 1.62) ملغم / ديسيلتر، في مصل الدم للمرضى المصابين بسرطان الكبد الثانوي بعد العلاج مقارنة بمستواه قبل العلاج، وكما موضح في الجدول (4-5).

جدول (4-5) مستويات المتغيرات المناعية والكيموحيوية في مصل دم مرضى سرطان الكبد الثانوي قبل وبعد العلاج .

المتوسط الحسابي $\pm$ الانحراف المعياري		المتغيرات
سرطان الكبد الثانوي بعد العلاج	سرطان الكبد الثانوي قبل العلاج	
7.50 $\pm$ 57.5	7.50 $\pm$ 57.5	العمر (year)
18.34 $\pm$ 64.30	23.10 $\pm$ 85.20	Interleukin-1 α pg/mL
21.86 $\pm$ 75.50	36.22 $\pm$ 84.00	Interleukin-2 pg/mL
21.42 $\pm$ 229.50	39.20 $\pm$ 209.70	Interleukin-6 pg/mL
33.13 $\pm$ 203.35	35.84 $\pm$ 167.40	Interleukin-10 pg/mL
** 13.87 $\pm$ 133.20	46.11 $\pm$ 287.15	TNF- α pg/mL
7.29 $\pm$ 51.40	7.34 $\pm$ 52.35	أنزيم AST U/L
4.03 $\pm$ 58.05	2.11 $\pm$ 60.95	أنزيم ALT U/L
19.68 $\pm$ 157.40	9.33 $\pm$ 136.30	أنزيم ALP U/L
*** 0.21 $\pm$ 2.23	0.13 $\pm$ 2.96	Albumin g/dL
0.74 $\pm$ 1.55	0.57 $\pm$ 2.09	Total bilirubin mg/dL
0.29 $\pm$ 0.64	0.09 $\pm$ 0.48	Bilirubin direct mg/dL
* 0.33 $\pm$ 0.92	0.22 $\pm$ 1.62	Bilirubin indirect mg/dL

* فرق معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$ ، ***

ان سبب انخفاض الالبومين في سرطان الكبد الثانوي بعد العلاج يعود الى تناول العلاجات الكيميائية التي تسبب الضرر للخلايا الطبيعية والسرطانية على حد سواء فتسبب القتل السمي للخلايا الطبيعية للكبد فيسبب انخفاضاً في تصنيع الخلايا للألبومين، اضافت لذلك ان العلاجات الكيميائية لمرضى السرطان ممكن ان تسبب الضرر في الانسجة والخلايا الكلوية (Sergei I واخرون و2010) و (Longe, 2005) فتسبب خروج كميات كبيرة من الالبومين مع الاضرار فيسبب micro albuminuria بالتالي يسبب انخفاض في تركيز الالبومين بعد العلاج ، Chen-Sheng Lin واخرون 2008 وهذا يتفق مع دراسة (Sergei I واخرون و2010) و (Longe,2005)، وربما يعود سبب انخفاض نسبة البليروبين غير المرتبط الى انخفاض نسبة الهيموكلوبين بعد العلاج أي تحدث حالة فقر الدم كون العلاجات تؤثر على خلايا نخاع العظم فيقل انتاج خلايا الدم الحمراء بعد تناول اكثر من جرعه من العلاج الكيميائي (Longe, 2005).

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusions

بإستقراء النتائج التي تم الحصول عليها، استنتجت الدراسة الحالية ما يأتي:

1- وجود علاقة ارتباط ايجابية وسلبية بين $IL-1\alpha$ ، $IL-2$ ، $IL-6$ ، $IL-10$ ، $TNF-\alpha$ ، و AST ، ALT ، ALP ، البليروبين الكلي، الالبومين، من جانب ، ومن جانب اخر بينت الدراسة وجود علاقات ترابطية ايجابية بين $IL-1\alpha$ ، $IL-2$ ، $IL-6$ ، $IL-10$ ، $TNF-\alpha$ ، مع بعضها البعض.

2- إن مستويات الحركات الخلوية في سرطان الكبد الاولي والثانوي مرتفعة ولا توجد فروق بين مستويات الحركات الخلوية بين مجموعة سرطان الكبد الاولي ومجموعة سرطان الكبد الثانوي.

3- كان هناك اختلاف في تركيز بعض المعايير الكيميائية المدروسة AST ، ALT ، ALP ، والالبومين، والبليروبين في مصل المرضى مما يشير إلى وجود ضرر في الكبد الذي ادى الى انخفاض القدرة الوظيفية للكبد المتمثلة بالوظيفة الاخراجية، والانتاجية، والمناعية .

4- اوضحت الدراسة وجود انخفاض معنوي في مستويات $TNF-a$ والالبومين، والبليروبين غير المرتبط، بينما باقي المتغيرات لم تظهر اي فروق معنوية في مجموعة سرطان الكبد الثانوي قبل وبعد العلاج .

التوصيات

Recommendations التوصيات

- 1- إجراء دراسة على أنواع أخرى من الحركات الخلوية مثل IL-8، IL-23، INF- γ وعلاقتها بسرطان الكبد .
- 2- اجراء دراسة جزيئية للجينات التي تشفر للحركات الخلوية IL-1 α ، IL-2، IL-6، IL-10، TNF- α ، في مرضى سرطان الكبد العراقيين .
- 3- إجراء تجارب خارج الجسم الحي على الفئران ومعرفة مدى تأثير الحركات الخلوية على تطور مرض سرطان الكبد.

المصادر عربي

- السيد، رنوة ، غادة الأخرس (٢٠٠٩). تحري المستوى المصلي للانترلوكين ١٠ لدى مجموعة مرضى سوريين بأورام صلبه مشخصة حديثا ودراسة علاقة تلك القيم بسير المرض ، مجلة التشخيص المخبري المجلد ٥ العدد ٢ .
- العلوي، صباح ناصر. (٢٠١٤). علم وضائف الاعضاء . عمان، الاردن.
- قمحية، حسان احمد (١٩٩٥). الفزيولوجيا الطبية والفزيولوجيا المرضية. الجزء الاول. (مترجم) دار ابن النفيس. المركز التقني المعاصر.
- موخيرجي، سيدهارتا، عليان، طارق راشد، (٢٠١٣)، أمبراطور الامراض السرطان – سيرة ذاتية، الجزء الاول والثاني، مكتبة الملك فهد الوطنية ، الرياض، السعودية.
- ياسين، عقيل عبد و توفيق، طارق حفزي (١٩٩٠). السرطان ومسبباته. رقم الايداع في دار الكتب والوثائق ببغداد ٣٢٩ لسنة ١٩٩٠.

- **ABE, B. T. (2011). The role of nfati in tumor-induced CD4+ T cell tolerance.** Degree of Doctor of Philosophy in the Graduate Division of Medical Sciences Albert Einstein College of Medicine Yeshiva University New York November. pp178.
- **Abramowicz, D. ; Meyer, M. ; Florquin, S. and Goldmand, M. (2003).** Immunomodulators. In: De-Broc, M.; Porter, G. & Bennett, W. M. (Eds.). Clinical nephrotoxin. Klumer Acad. Publ., Netherlands: 459-475.
- **Abrams, D. ; Levy, Y. ; Losso, M. H. ; Babiker, A. ; Collins, G. ; Cooper, D. A. and Darbyshire, J. (2009).** Interleukin-2 therapy in patients with HIV infection. England J. Med., 361: 1548-1559.
- **Abshagen, K. ; Angela, K. ; Berit, G. and Brigitte, V. (2015).** Anatomy and physiology of the Hepatic circulation. J. Pan Vascular Med., Pp: 3607-3629.
- **Agarwal A.; Verma S.; Burra U.; Murthy N. S.; Mohanty N. K. and Saxena S. (2006).** flow cytometric analysis of Th1 and Th2 cytokines in PBMCs as a parameter of immunological dysfunction in patients of Superficial Transitional cell carcinoma of bladder. Cancer Immunology, Immunotherapy; 55 (6): 734-743.
- **Ahmadzadeh, M. and Rosenber, S. A .(2006).** IL-2 administration increases CD4 CD25 hi Foxp3 regulatory T cells in cancer patients . J. Immunobiol. Vol. 107, 2409 - 2414.
- **Al_Hussain, R. S. ; Saeed, H. A. ; Rafah, R. I. and Eman, M. (2014).** evaluation of levels ceruloplasmin, copper, zinc, calciumand non-ceruloplasmin_bound copper in lung and

livercancer patients. The 2nd scientific conference of the Coll., Sci. 156 pp.

- **Al-Hamadani, I. H. (2010).** Alternations of serum calcium, phosphorus and alkaline phosphatase in postmenopausal women”. Tikrit J. of pharmaceutical sciences, Uni. Tikrit- Coll. Pharmacy., 6: 1817-2716.
- **Ali, A. T. ; Paiker, J. E. and Crowther, N. J. (2006).** The relationship between anthropometry and serum concentrations of alkaline phosphatase isoenzymes, liver enzymes, albumin, and bilirubin. J. Clin. Pathol., 126:437-442.
- **Alison, Malcolm R. (2001).** Cancer . J. encyclopedia of life sciences.
- **Al-Khayat, D. T. ; Al-Kirwi, A. A. ; Hashim, M. J. and Baker, M. (2001).** experiments in clinical biochemistry. alkindy medical Coll., Univ. Baghdad.
- **Allen, E. S.(2002).** The Liver Anatomy, Physiology, Disease and Treatment. Bio4161 – Human Anatomy and Physiology Northeastern University December 7th. ,1-14.
- **Al-Sarireh, B. and Eremin, O. (2000).** Tumor–associated macrophages (TAMS): disordered function, immune suppression and progressive tumor growth J. R. Coll. Surg. Edinb. 45: 1-16.
- **Al-Shammaa, N. M. J. ; Al- Wihaly, B. H . and Abass, E. A.A. (2011).** effect of some enzymes activity in liver diseases from patients of *Salmonella Paratyphi A* with iraqi woman .Ibn Al-Haitham J. For Pure and Appl. Sci., 24:1-9.
- **American cancer society,(2009).** The History of Cancer.
- **Anderson MH, Schrama D, Straten P, Becker JC. (2006).** Cytotoxic T cells. J. Invest Dermatol., 126 (1): 32-41.**Asano, N.,**

Manabe, T., Yoshimura, T., Ohshio, G. and Imanishi, K.(1991). role of free radical scavengers in pancreatic carcinoma of hamsters. Nippon GekaHokan; 60 (6): 387-395.

- **Andreoli ,T . E . ; Carpenter ,C .C . ; Griggs ,R .C. and loscalzo ,J . (2004) .** Cecil Essentials of medicine . 6th. ed. ,Saunders. USA , 392-399.
- **Ardestani S. K.; Inserra P.; Solkoff D. and Watson R.R. (1999).** The role of cytokines and chemokines on tumor progression: a review. Cancer Detect. Prev., 23: 215-225. [Medline].
- **Assiri, A. M. A. and Abdel–Wahab, A. F. I. (2003).** Carnosine protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. Saudi Pharmaceuticed J. 11.(1-2) : 23-31.
- **Balasa, B. ; Rui, Y. and Nicole, A. B. (2015).** Elotuzumab enhances natural killer cell activation and myeloma cell killing through interleukin-2 and TNF- α pathways. J. sprenger Cancer Immunol Immunother, 64:61–73.
- **Balter,V.; Andre N. D. C. ; Victor, P. B.; Klervia, J. ; Aline, L. ; Suleeporn, S. ; Nicolas, V. ; Francois, F. ; Philippe, T. ; Michelle, G. ; Christophe, L. F.; Petcharin, S.; Christian, B. G. ; Francis, A., and Pierre, H. (2015).** Natural variations of copper and sulfur stable isotopesin blood of hepatocellular carcinoma patients. vol. 112 . 4.
- **Beckebaum, S. X. Z. ; Xiao, C. ; Zhengya, Y. ; Andrea, F.; Grzegorz, D. ; Hans, G. ; Christoph, E. B. G. and Vito, R. C. (2004).** Increased levels of interleukin-10 in serum from patients with hepatocellular carcinoma correlate with profound numerical deficiencies and immature phenotype of circulating dendritic cell subsets. J. Clin. Canc. Res. Vol. 10, 7260–7269.

- **Bemelmans, M. H. ; Van, L. J. ; Buurman, W. A. (1996).** Tumor necrosis factor: function, release and clearance. Crit Rev Immunol,16:1–11.
- **Benbow, J. H. ; Kyle, J. T. ; Heidi, L. C. ; Elizabeth, B. W. ; Catherine, R. C. ; Krista, L. B. ; Ting, L. ; Mark, W. ; Russo, K. S. ; Gersin, I. H. ; McKillop, A. S. and Lemos, L. W. (2016).** Diet-induced obesity enhances progression of hepatocellular carcinoma through tenascin-C/toll-like receptor 4 signaling. American J. pathol., Vol. 186, Issue 1: Pp 145-158.
- **Benjamini, E. ; Coico, R. and Sunshine, G. (2000).** Immunology a short course. 4th. wiley liss, U.S.A. : 147-67.
- **Bishop, M. L. ; Edward, P. F. and Larry, S. (2005).** Clinical chemistry, principle, procedures, correlation 5th. lipincott and wilkin, philadelphia, 252-336.
- **Brian, J. K. ; Bahij, S. N. and Moore, J. G. (2004).** Maternal physiologic and immunologic adaptation to pregnancy. Essentials of Obstetrics and Gynecology, 4th, Elsevier Saunders; 65–81.
- **Britton, V. ; Robins, R. A. and Baldwin, R. W. (1998).** In vitro activation of natural killer like cytotoxicity by specifically in vivo primed T-helper Lymphocytes. Immunol. 52: 31-39.
- **Buban I. (2004).** Origin of anti-tumor immunity failure in mammals. Kluwe academic, New York: pp101-102.
- **Bukholm, I. K ; Nesland, J. M. ; Borresen, D. A. (2000).** Expression of E-cadherin, α -catenin and β -catenin, but not γ -catenin in metastatic tissue from breast cancer patient. J. Pathol., 190: 15-19.
- **Burkholder, B. ; Ren-Yu, H. ; Rob, B. ; Shuhong, L. ; Valerie, S. J. ; Wenji, Z. ; Zhi-Qiang, L. ; Chang-Yu, G. ; Bao-Ling, W.**

- ; **Yu-Ming, Z. and Ruo-Pan, H.(2014).** Tumor-induced perturbations of cytokines and immune cell networks, *J. Biochim. et Biophysica Acta (BBA) - Reviews* Vol. 1845, Issue 2, 182–201.
- **Burt, A. D. and Day, C. P. (2002).** Pathophysiology of the liver. in *pathology of the liver . churchill livingstone New York.*, 67–105.
 - **Candelaria, B. L. ; Riestra, W. ; Rodríguez, M. ; Luis, E. ; Vazquez, Q. and Juan, C. J. (2016).** Ultrasound accuracy of liver length measurement with cadaveric specimens. *J. diagnostic med. sonography*.
 - **Cardin, R. ; Marika, P. ; Marina, B. ; Andromachi, K. ; Luisa, B. ; Enrico, L. ; Alessandro, S. ; Kryssia, I. ; Rodriguez-Castro, M. and Rugge, F. F. (2014).** Oxidative damage in the progression of chronic liver disease to hepatocellular carcinoma: An intricate pathway. *World J. Gastroenterol.*, 20(12): 3078-3086.
 - **Carlioni,V. ; Tu, V. L. and Krista, R. (2014).** Hepatic stellate cells and extracellular matrix in hepatocellular carcinoma: more complicated than ever. *J. liver int.*, pp 834-843.
 - **Carter, D. B. ; Deibel, M. R. ; Dunn, C. J. ; Tomich, C. S. C.; Laborde, A. L. ; Slightom, J. L. ; Berger, A. E. ; Bienkowski, M. J. ; Sun, F. F. ; Mc Ewan, R. N. ; Harris, P. K. W. ; Yem, A. W. ; Waszak, G. A. ; chosay, J. G. ; Sien, L. C. ; Hardee, M. M. ; Zurcher-neely, H. A. ; Reardon, I. M. ; Heinrikson, R. L. ; Traesdell, S. E. ; Shelly, J. A. ; Eessalu, T. E. ; Taylor, B. M. ; and Tracey, D. E. (1990).** *Nature*. 344:633-638. [Medline].
 - **Cervello, M. ; Daniela, F. ; Ada, M. F. ; Maurizio, S. ; Claudio, T. ; Natale, D. A. and Giuseppe, M. (2005).** Correlation between expression of cyclooxygenase-2 and thepresence of inflammatory

cells in human primary hepatocellular carcinoma: Possible role in tumor promotion and angiogenesis. *World J. Gastroenterol.*, Vol., 11(30):4638-4643.

- **Chen, S. L. ; Chi-Sen, C. ; Sheng-Shun, Y. ; Hong-Zen, Y. and Cheng-Wen, L. (2008).** Retrospective evaluation of serum markers APRI and AST/ALT for assessing liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B and C patients with hepatocellular carcinoma .*J., internal., medicine* Vol., 47: 569-575.
- **Chen, Z. ; Malhotra, P. S. ; Thomas, G. R. ; Ondrey, F. G. ; Duffey, D. C. ; Smith, C. W. ; Enamorado, I. ; Yeh, N. T. ; Kroog, G. S. and Rudy, S. (1999).** Expression of proinflammatory and proangiogenic cytokines in patients with head and neck cancer . *Clin. Cancer Res.*, 5: 1369-1379.
- **Chen, Z. Y.; Wei, W. ; Guo, Z. X. ; Peng, L. X. ; Shi, M. ; Li, S. H. ; Xiao, C. Z. ; Zhong, C. ; Qian, C. N. and Guo, R.P. (2014).** Using multiple cytokines to predict hepatocellular carcinoma recurrence in two patient cohorts. *British, J. Canc.* Vol.110, pp733-740.
- **China, L. ; Nicola, M. ; Simon, S. S. ; Zainib, S. ; Roel, P. D. ; Maeyer, A. A. ; Maini, D. W. and Gilroy, A. J. (2016).** Attire: albumin to preven T infection in chronic liver failure: study protocol for a single-arm feasibility trial. Downloaded from <http://bmjopen.bmj.com> / Published by group.bmj.com. Pp:1-7.
- **Cleary, K. M. C. (2001).** The role of natural medicine in conventional cancer treatment. Reprinted from *Soil and Health*. 60 (5): 15-17.
- **Coico, R. ; Sunshine, J. and Benjamini, E. (2000).** *Immunology*. 5th edition. wiley liss Inc.: pp 277-279.

- **Colotta, F. ; Muzio, M. ; Bertini, R. ; Polentarutti, N. ; Sironi, M. ; Giri, J. G. ; Dower, S. K. ; Sims, J. E. ; and Montavani, A. (1993).** Science. 261: 472-475.
- **Cooper, G. M. (2000).** An overview of cells and cell research; the organization of cellular genomes, fundamentals of molecular Biology; and Cancer in the cell. A molecular Approach. 2nd edition. Boston Uni. ASM Press, Washington, D.C. Chapter 1; pp: 3-39; Chapter 3; pp: 89-135; Chapter 4; pp: 137-177; and Chapter 15; Pp : 609-650.
- **Cotterell, A. H. and Fisher, R. A.(2015).** Ischemia / reperfusion injury and hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation: cancer at WIT's end?. J. Springer Science+Business Media New York Vol. 60: pp 2579–2580.
- **Dajani, L. K. ; Paus, E. and Warren, D. J. (2011).** Development of A rapid and sensitive immunofluorometric assay for glutathiones-transferase A. Clin Chem., 47: 867–73.
- **Damianaki, A. ; Bakogeorgou, E. ; Kampa, M. ; Notas, G. and Castancas, E. (2000).** Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human breast cancer cells. Cellular Biochem. J. 78: 429-441.
- **Das, S. ; Yadav, D. ; Narang, R. and Das, N. (2002).** Interrelationship between lipid peroxidation, ascorbic acid. Current Sci. J. 83 (4) : 488- 491.
- **Dasgupta, A. (2007).** Cytokine of immune reaction . Immunol., First Edition . JPBMP . Delhi. Pp :306-308.
- **David, L. N. and Michael, M. C. (2000).** Lehninger principles of biochemistry" . 3rd Ed , Worth Publisher., pp 623 – 655.

- **Daze, D. C. (2007).** The role of existind and novel cardiac biomarkers for cardioprotection. Curr. Opin. Investi. Drugs. , 8: 711-717.
- **Dejana, E. ; Federico, B. ; Maria, C. B. ; Antonella, R. ; Aldo, T. ; Ferruccio, B. and Raffaella, G. (1988).** Interleukin I promotes tumor cell adhesion to cultured human endothelial cells. American Society for Clinical Investigation, Inc. Vol., 82, 1466-1470.
- **Dennery, P. A. ; Seidman, D. S. and Stevenson, D. K. (2001).** Neonatal hyperbilirubinemia. N. Engl., J. Med., pp 344:581.
- **Desai, P. (2007) .** Cytokines in obstetricsand gynecology . J., Obstetrics and Gynecol., India . 57(3):205-209.
- **Dhakad, R. K. ; Alam, S. I. ; Dixit, A. and Singh, L. (2005).** Purification and characterization of thermo-labile alkaline phosphatase from an antractic pyschrotolerant *Bacillus* Sp. P9. Enzyme and Microbiol Technology., 36:855 – 861.
- **Dilillo, D. J. and Jeffrey, V. R. (2015).** Fc-receptor interactions regulate both cytotoxic and immunomodulatory therapeutic Antibody Effector Functions. J. American Association for Cancer Research 3 (7) pp 704-713.
- **Dinarello, C. A. (1991).** Blood. J. American Society Hematol. 77: 1627-1652.
- **Dinarello, C. A. (1996).** Biologic basis for Interleukin-l in disease . J. American Society Hematol. Vol., 87, 6 pp 2095-2147.
- **Dooms, H. and Abbas, A. K. (2010).** Revisiting the role of IL-2 in autoimmunity. European J., Immunol., 40: 1538-1540.
- **Duan, M. ; Zhi, C. ; Wang, X. ; Ying, W. ; Jie, Y. ; Shi, L. X. ; Yang, Z. ; Bing, D. ; Qiang, G. ; Jian, Z. and Jia, F.**

(2015). TREM-1, an inflammatory modulator, is expressed in hepatocellular carcinoma cells and significantly promotes tumor progression. J. Annals Surgical Oncol., Vol. 22, Issue 9: pp 3121-3129.

- **Eisenberg, S. P. ; Evans, R. J. ; Arend, W. P. ; Verderber, E. ; Brewer, M. T. ; Hannum, C. J. and Thompson, R. C. (1990).** Nature. 343:341-34. [Medline].
- **El-Folly, R. F. ; El-Kabarity, R. H. and Naglaa, A. A. (2010).** Assessment of the role of interleukin-6 in diagnosis of hepatocellular carcinoma. J. Immun., Vol. 17 (2), pp: 11-22.
- **Fischbach, F. T. and Dunning, M. B. (2008).** A manual of laboratory and diagnostic tests. 8thedn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: 1317 pp.
- **Fontana, A. ; Krislensen, F. and Duba, R. (1982).** Production of PG-E and IL-a like factor by cultured astorcytes and C6 glioma cells. J., Immunol., 129: 2413.
- **Frumento, G ; Piazza, T. D. ; Carlo, E. and Ferrin, S. (2006).** Targeting tumor- related immunosuppression for cancer immunotherapy. endocr metab immuno disord drug targets. 6(3): 293-7.
- **Gao, B. ; Hua, W. ; Fouad, L. and Dechun, F. (2012).** STAT proteins – key regulators of anti-viral responses, inflammation, and tumorigenesis in the liver. J. Hepatol. Vol. 57, 430–441.
- **Gavicharla, A. (2012).** Methylation markers in hepatocellular carcinoma. M.S.C. uni., cleveland state, science in chemistry, pp 50.

- **Gelu-Simeon, M. and Didier, S. (2013).** Role of cytokine levels in assessment of prognosis and post-treatment outcome in hepatocellular carcinoma. *J. Hepatol. Int.* 7:788–791.
- **Gerloni, M. ; and Zanetti, M. (2005).** CD4 T cells in tumor immunity. *Springer Semin Immunopathol.*, 27(1): 37- 48.
- **Geveart , K. and Vandekerchove, J. (2000) .** Protein identification method in proteomics . *Electrophoresis . Vol.*, 21 :145 - 233 .
- **Goldsby, R. ; Kindt, T. and Osborne, B. (2000).** Cancer and the immune system In: *Kuby, immunol.*, W. H. freeman and company, New York. U.S.A.
- **Goldsby, R. A. ; Kindt, J. J. and Osborne, B. A. (2003).** *Kuby Immunology. Major Histocompatibility complex*, Freeman and company, New York. pp 161-184.
- **Gong, N. ; Chen, C. ; Xie, L . ; Chen, H. ; Lin, X. and Zhang, R. (2005).** Characterization of A thermostable alkaline phosphatase from A novel species *thermos Yunnanensis* Sp. nov. and investigation of its cobalt activation at high temperature. *biochim. Biophys. Acta.*, 1750:103 – 11.
- **Graves, B. J. ; Hatada, M. H. ; Hendrickson, W. A. ; Miller, J. K. ; Madison, V. S. and Satow, A. (1990).** Structure of interleukin 1 alpha at 2.7-A resolution. *Biochem.,.* Mar. 20, 29 (11): 2679-2684.
- **Guo, J. ; Zhenhua, M. ; Qingyong, M. ; Zheng, W. ; Ping, F. ; Xiaojie, Z. ; Lulu, C. ; Shuang, Z. ; David, G. ; Dengshun, M. and Erxi, W. (2013).** 1,25(OH)₂D₃ inhibits hepatocellular carcinoma development through reducing secretion of

inflammatory cytokines from immunocytes. J. NIH Public Access Author Manuscript Curr Med Chem. Vol. 20(33): 4131–4141.

- **Guobin, H. ; Debanjan, D. ; Hayato, N. ; Joan, F. B. ; Hisanobu, O. ; Yuhong, J. ; Shabnam, S. ; Ekihiro, S. ; Shawn, E. ; Yost, K. ; Jepsen, K. A. ; Frazer, O. ; Harismendy, M. ; Hatziapostolou, D. ; Iliopoulos, A. ; Suetsugu, R. M. ; Hoffman, R. ; Tateishi, K. K. and Michael, K. (2013).** Identification of Liver Cancer Progenitors Whose Malignant Progression Depends on Autocrine IL-6 Signaling. J., Cell. 10; 155(2): 384–396.
- **Guobin, H. ; Debanjan, D. ; Hayato, N. ; Joan, F. B. ; Hisanobu, O. ; Yuhong, J. ; Shabnam, S. ; Ekihiro, S. ; Shawn, E. Y. ; Kristen, J. ; Kelly, A. ; Frazer, O. ; Harismendy, M. ; Hatziapostolou, D. ; Iliopoulos, A. ; Suetsugu, R. M. ; Hoffman, R. T. ; Kazuhiko, K. and Michael, K. (2014).** Identification of Liver Cancer Progenitors Whose Malignant Progression Depends on Autocrine IL-6 Signaling. J., NIH-PA Author Manuscript. 155(2): 384–396.
- **Guobin, H. and Michael, K. (2011).** NF- κ B and STAT3 – key players in liver inflammation and cancer. J., Cell Research 21:159-168.
- **Hall, P. and Cash, J. (2012).** What is the real function of the liver function tests. J ., Ulster Med, 81:30-36.
- **Hammam, O. ; Ola, M. ; Manal, Z. ; Azza, S. ; Rabab, S. ; Karim, H. and Ahmed, F. (2013).** A possible role for TNF- α in coordinating inflammation and angiogenesis in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. J. Gastrointestinal Canc. Research, Vol. 6 . Issue 4, pp107-114.

- **Hefler, L. A. ; Grimm, C. ; Ackermann, S. ; Malur, S. ; Radjab-Rahat, A. R. ; Leodolter, S. ; Beckmann, M. W. ; Zeillinger, R. and Koelbl, H. (2003).** An interleukine-6 gene promoter polymorphism influences the biological phenotype of ovarian cancer . J., Canc. Res. 15(63):3066-3068.
- **Herndez-gea, V. ; Sara, T. ; Scott, L. F. and Josep, M. L. (2013).** Role of the microenvironment in the pathogenesis and treatment of hepatocellular carcinoma. J. Gastroenterol., Vol. 144, No. 3: pp512–527.
- **Huang, X. J. ; Choi, Y. K. ; Im, H. S. ; Yarimaga, O. ; Yoon, E. and Kim, H. S. (2006).** Aspartate aminotransferase (Ast/Got) and alanine aminotransferase (Alt/Gpt) detection techniques. sensors ., 6:756-782.
- **Hussain, P. ; Glennwood, E. ; Lorne, J. and Piejun, H. (2004).** Nitric oxide, a mediator of inflammation, suppresses tumorigenesis. Canc. Res. 64: 6849-53.
- **Hyde, R. M. (2000).** National medical for independent study immunology 4th . Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia: pp181-182.
- **Hyde, R. M. (2000).** National medical servies for independent study. immunology, 4th edition Chapter 10 (11) :22-34.
- **Ikeda, M. ; Takuji, O. ; Shuichi, M. ; Hideki, U. ; Toshiyuki, T. ; Takuya, S. ; Seiichi, H. ; Tadashi, K. ; Kiwamu, O. and Hiromitsu, K . (2015).** Safety and pharmacokinetics of lenvatinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. J. American Association for Canc. Res. Vol. 22 No. 6 : pp 1385-1394.

- **Jayapal, V. (2007).** Cytokines . In : Fundamental of medical immunology . 6th Ed . Jaypee Brothers Med. Publishers . LTD . P: 122 – 135.
- **Jie, Z. Y. ; Qiang, J. and Guan-Cheng, L. (2013).** Tumor markers for hepatocellular carcinoma. (Review) J. Molecul. and clinical oncol., 1: 593-598.
- **Johnson, C. ; Yuyan, H. ; Nathan, H. ; Jennifer, M. ; Gianfranco, A. and Fanyin, M. (2012).** Interleukin-6 and its receptor, key players in hepatobiliary inflammation and cancer. J., Translational Gastrointestinal Canc., Vol. 1, N0 1 pp 2224-4778.
- **Johnson, P. J. ; Sarah, B. ; Chiaki, K. ; Shinji, S. ; Mabel, T. ; Helen, L. R. ; James, O. ; Richard, F. ; Anna, S. ; Daniel, P. Winnie, Y. ; Frankie, M. ; Paul, L. ; Mercedes, I. ; Stephen, L. C. ; Bruno, S. ; Rebecca, M. ; Toshifumi, T. ; Takashi, K. and Hidenori, T. (2015).** Assessment of liver function in patients with hepatocellular carcinoma: A new evidence-based approach—the ALBI grade, J. clinical, oncol., Vol. 33, No. 6 : pp 550- 558.
- **Johnston, S. D. ; Starrs, A. P. ; Danids, C. B. and Orgeiny, S. (2002).** Ontogeny of the pulmonary surfactant and antioxidant enzyme systems in the viviparous lizard, *Tiliquarugosa*. Physiol and Biochem. Zool. 15(3): 260-272.
- **Jones, S. A. (2005) .** Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6 . J., Immunol. 175(6):3463-3468.
- **Jones, S. A. and Rose, J. S. (2002).** The role of soluble receptors in cytokine biology: The agonistic properties of the sIL-6R/IL-6 complex. Biochim. Biophys. Acta . 1592: 251-63.

- **Kanda, T. and Takahashi, T. (2004) .** Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Jpn Heart J* . 45: 183-93.
- **Kandiah, M. and Tan, P. (2004).** Inverse relationship between body mass index and premenop breast cancer risk in Malaysian women. *Asia. Pac. J .Clin. Nutr.* 13 : S 171.
- **Kang, N. and Shah, V. H .(2011).** Hepatic stellate cells: partners in crime for liver metastases . *J. Hepatol.* Vol. 54, No. 2, pp707 – 713.
- **Kaplan, L. A. ; Amadeo, J. P. and Steven, C. K. (2003).** *Methods in clinical chemistry".* 4th Ed. Mosby – U.S.A., pp113.
- **Kaur, K. ; Dhingra, S. ; Slezak, J. ; Sharma, A. K. ; Bajaj, A. and Singal, P. K. (2009).** Biology of TN-F α and IL-10, and their imbalance in heart failure. *Heart Failure Reviews*, 14: 113-123.
- **Khan, M. T. ; Afzal, S. , Rahman, A. and UR, Z. T. (2015).** J., *biol. science* , Vol. 2, no.2 , pp 67-73.
- **Kilian, M. ; Mautsch, I. ; Gregor, J. I. ; Heinicheu, D. ; Jacobi, C. A. ; Schimke, I. and Wenger, F. A. (2003).** Influence of conjugated and conventional linoleic acid on tumor growth and lipid peroxidation in pancreatic adenocarcinoma in hamster. *Prostaglandins leukot essent fatty acids.* 69 (1): 67-72.
- **Kishimoto, T.(2010).** IL-6: from its discovery to clinical applications.*journal of International Immunology*, Vol. 22, no. 5, pp. 347–352.
- **Knox, J. J. (2015).** Addressing the interplay of liver disease and hepatocellular carcinoma on patient survival: the ALBI scoring model. *J. Clinical oncol.*, Vol. 33 No 6: pp 529-531.

- **Kondratiev, S. and Sabo, E. (2004).** Intratumoral CD8+ T lymphocytes are a prognostic factor of survival in endometrial carcinoma. Clin. Canc. Res., 10: 4450- 4456.
- **Kuntiz, E. and Kuntiz, H. D. (2006).** Hepatology: principle and practice, 2ndedn., Springer, Germany, pp 906.
- **Kurzrock, R. (2001).** The role of cytokines in cancer-related fatigue. J. American Canc. Soci. pp1684-1687.
- **Ladep, N. G. ; Shahid, A. Khan, M. M. ; Crossey, A. V ; Thillainayagam, S. D. ; Taylor, R. and Mireille, B. T. (2014).** Incidence and mortality of primary liver cancer in England and Wales: Changing patterns and ethnic variations. World J. Gastroenterol. 20(6):pp1544-1553.
- **Laheru, D. and Jafee, E. (2007).** The Cancer Hand book. Cancer vaccines 2nd ed. Chichester, UK. Wiley. 1268-1274.
- **Lamina, S. ; Ezema, C. I. ; Theresa, A. I. and Anthonia, E. U. (2013).** Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. Oxid. Antioxid, Med. Sci., 2:83-91.
- **Lanier, L. L. (2015).** NKG2D receptor and its ligands in host defense. J. American Association for Cancer Research 3 (6) pp 575-582.
- **Larusso, L. (2007).** Malignant hepatoma; hepatocellular carcinoma; primary liver cancer. 1st edition. EBSCO Publishing. Pp 243.
- **Lenardo, M. J. (1991).** Interleukin-2 programs mouse alpha beta T lymphocytes for apoptosis. Nature, 353: 858-861.
- **Leong, S. ; Liew, C. ; Lau, J. and Johnson, P. (2000).** Hepatocellular carcinoma: contemporary diagnosis; investigation and management . J. Nat. Can. Inst. 92(3): 272-3.

- **Levens, J. M. ; Gordon, J. and Gregory, C. D. (2000).** Micro-environmental factors in the survival of human B-lymphoma cells. *Cell Death and Differentiation*, 7: 59-69.
- **Lin, D. ; Lei, L. ; Yonghao, L. ; Yinsheng, Z. ; Bo, H. ; Guangming, B.; Yuan, S. ; Ziqi, J. ; Chunliang, L. ; Yu, M. ; Dedy, S. ; Yan, W. ; Lixiang, Z. ; Xiao, Y. and Haiyan, L. (2016).** Membrane IL-1 α inhibits the development of hepatocellular carcinoma via promoting T and NK cell activation. *J. canc. Res.* pp1916 –1930.
- **Longe, J. (2005).** The gale encyclopedia of cancer, second edition , library of congress .
- **Lowes, K. N. ; Emma, J. C. ; John, K. O. ; Lawrence, J. A. and George, C. T. (2003).** Oval cell-mediated liver regeneration: Role of cytokines and growth factors. *J. Gastroenterol. and Hepatol.*, pp 4–12.
- **Loze, M. T. and Thomson, A. W. (2005).** Measuring immunity basic science and clinical practice. Elsevier academic press: pp 468.
- **Ma, W. ; Lim, W. and Gee, K. (2001).** The p38 mitogen-activated kinase pathway regulates the human interleukin-10 promoter via the activation of Sp1 transcription factor in lipopolysaccharide-stimulated human macrophages. *J., Biol. Chem.*, 276: 13664-13674.
- **Macarthur, M. ; Georgina, L. H. and El-Omar E. M. (2004).** Inflammation and Cancer II. Role of chronic inflammation and cytokine gene polymorphisms in the pathogenesis of gastrointestinal malignancy. *J. Physiol. Gastrointest liver physiol.* 286: 515–520.

- **Madhuri, D. and Viveka, V. V. (2014).** Alkaline and acid phosphatase levels in the abdominal muscles of immune stimulated mice during hepatitis B. *Biolife*. 2: 400-406.
- **Maier, J. A. ; Statuto, M. and Ragnotti, G. (1994).** *Mol. Cell. Biol.* 14, 1845-1851.
- **Malarkey, D. E. ; Johnson, K. ; Ryan, L. ; Boorman, G. and Maronpot, R. R. (2005).** New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicologic pathol.*, 33:27–34.
- **Malek, T. R. ; Yu, A. ; Vincek, V. ; Scibelli, P. and Kong, L. (2002).** CD4 regulatory T cells prevent lethal autoimmunity in IL-2Rbeta-deficient mice. Implications for the nonredundant function of IL-2. *Immunity*, 17: 167-178.
- **Marnett, L. (1999).** Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat. Res.* 424 (2): 83-95.
- **Marti, H. P. ; McNeil, L. ; Davies, M. ; Martin, J. and Lovett, D. H. (1993) .** *Biochem. J.* 291, 441-446.
- **Martins, M. J . ; Negrao, M. R. and Hipolito, C. (2001).** Alkaline phosphatase from rat liver and kidney is differentially modulated. *Clin. Biochem.*, 34: 463 – 468.
- **Masaki, H. ; astumi, T. and Sakurai, H. (1995).** Detection of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals in murine skin fibroblasts under UVB irradiation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 206: 474-479.
- **Mc Gavern, D. and Dustin, M. (2009).** Current topics in microbiology and immunology .Springer science, Business media, London: pp 262.
- **Mcbride, P. E. (1992).** The health consequences of smoking. cardiovascular diseases. *Med. Clin. North Am.*, 76: 333-353.

- **McEwen-Smith, Rosanna M; Mariolina Salio, and Vincenzo Cerundolo. (2015).** The Regulatory Role of Invariant NKT Cells in Tumor Immunity . journal of American Association for Cancer Research 3 (5) pp425–35.
- **McMahan, C. J. ; Slack, J. L. ; Mosley, B. ; Cosman, D. ; Lupton, S. D. ; Brunton, L. L. ; Grubin, C. E. ; Wignall, J. M. ; Jenkins, N. A. ; Brannan, C. I. ; Copeland, N. G. ; Huebner, K. ; Croce, C. M. ; Cannizzarro, L. A. ; Benjamin, D. ; Dower, S. K. ; Spriggs, M. K. ; and Sims, J. E. (1991).** EMBO J., 18: 2821-2832. [Medline].
- **Mihm, J. ; Martin, C. and James, J. M. (2015).** Reflections on the histopathology of tumor- infiltrating lymphocytes in melanoma and the host immune response. J. American Association for Cancer Research 3 (8) pp 827-835.
- **Miki, K. ; Mingxu, X. ; Gupta, A. ; Bouvet, M. and Moossa, A. R. (2001).** Methioninase cancer Gene therapy with selenomethionine as suicide prodrugs substrate. Canc. Res. 61: 6805-6810.
- **Montesano, R. ; Hainaut, P. and Wild, P. (1997).** Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. J. Nat. Can. Inst. 89; 24.
- **Moore, K. W. ; De, W. ; Malefyt, R. ; Coffman, R. L. and O'Garra, A. (2001).** Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Annual Reviews of Immunol., 19: 683-765.
- **Mor, E. ; Ran, K. ; Patricia, S. and Myron, S. (1998).** Treatment of hepatocellular carcinoma associated with cirrhosis in the era of liver transplantation. Annals of internal medicine. 129(8):643-53.
- **Moretta, A. (1998).** Stimulatory receptors in N.K. and T. cells. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 230: 15.

- **Muller, U. ; Jongeneel, C. V. and Nedospasov, S. A. (1987).** Tumour necrosis factor and lymphotoxin genes map close to H-2D in the mouse major histocompatibility complex. *Nature*, 325:265–267.
- **Naka,T. ; Nishimoto, N. and Kishimoto, T. (2002).** The paradigm of IL-6: From basic science to medicine. *Arthritis Res.* 4 Suppl 3: 233-42.
- **National Cancer Institute (NCI). (2004).** Metastatic cancer. questions and answers. <http://www.Cancer.gov>.
- **Naugler, W. E. ; Toshiharu, S. ; Sunhwa, K. ; Shin, M. ; Kyoung, H. K. ; Ahmed, M. E. and Michael, K. (2007).** Gender disparity in liver cancer due to sex differences in my D88-dependent IL-6 production. *J. Sci.* Vol. 317 pp121-124.
- **O’Gorman, W. E. ; Doms, H. ; Thorne, S. H. ; Kuswanto, W. F. ; Simonds, E. F. ; Krutzik, P. O. ; Nolan, G. P. and Abbas, A. K. (2009).** The initial phase of an immune response functions to activate regulatory T cells. *J. Immunol.*, 183: 332-339.
- **Okabe, H. ; Evan, D. ; Jung, M. L. ; Jing, Y. ; Hiroki, K. ; Hiromitsu, H. ; Allan, T. ; Jaideep, B. ; Toru, B. ; Hideo, B. and Satdarshan, P. M. (2014).** Role of leukocyte cell-derived chemotaxin 2 as a biomarker in hepatocellular Carcinoma. *plosone.org*. Vol. 9 (6): 98817.
- **Oppenheim, J. J. and Ruscetti, F. W. (2001) .** Cytokine. in : *tristram , P. (Ed.). medical immunology, prentice Hall Int. Inc.USA. 10th ed. pp. 148- 160.*
- **Park, E. J. ; Jun, H. L. ; Guann, Y. Y. ; Guobin, H. ; Syed, R. A. ; Ryan, G. H. ; Christoph, H. O. ; Hiroyuki, T. and Michael, K. (2010).** Dietary and genetic obesity promote liver inflammation

and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. Cell 140, 197–208.

- **Parslow, T. G. ; Stites, D. P. ; Terr, A. and Imboden, J. B. (2001).** Mechanisms of tumor immunology. In Med. Immunol. 568-577.
- **Platzer, C. ; Docke, W. D. ; Volk, H. D. and Prosch, S. (2000).** Catecholamines trigger IL-10 release in acute systemic stress reaction by direct stimulation of its promoter/enhancer activity in monocytic cells. J. Neuroimmunol., 105: 31-38.
- **Podolsky, D. K. and Isselbacher, K. J. (2001).** Derangement of hepatic metabolism . 15th – Ed . McGraw – Hill, J. Med. Pub. Division. pp 1707-11.
- **Porta, C. M. ; De, A. ; Quaglini, S. ; Paglino, C. ; Tagliani, F. ; Boncimino, A. Moratti, R. and Corazza, G. R. (2007).** Circulating interleukin-6 as a tumor marker for hepatocellular carcinoma. J. Annals Oncol., Vol. 19, No. 2 pp 353-358.
- **Proia, D. A. and Gunnar, F. K. (2015).** Targeting heat-shock protein 90 (HSP90) as a complementary strategy to immune checkpoint blockade for cancer therapy. J. American Association for Cancer Research 3 (6) pp 583-589.
- **Raza, A. and Sood, G. K. (2014).** J. Gastroenterol., Vol. 20, no.15, pp 4115- 4127.
- **Reeves, H. L. ; Marco, Y. W. and Zaki, C. P. (2016).** Hepatocellular carcinoma in obesity, type 2 diabetes, and NAFLD. J. Digestive Diseases and Sciences, Vol. 61, Issue 5, pp 1234-1245.

- **Remco, V. H. ; Timo, L. M. ; Ten, H. and Alexander, M. M. E. (2006).** TNF-in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and Clinical. Utility, Oncologist. 11:397–408.
- **Richard, A. ; Glenn, S. ; John, L. and David, S. (1989).** Liver cancer. Canc. J. Clin .39:206-18.
- **Riede, U. N. and Werner, M. (2004).** Color atlas of pathology pathologic principles, associated disease, sequelae. Thieme, Germany: pp 326.
- **Roitt, I. ; Brostoff, J. and Male, D. (1997).** Tumor immunology: immunology. 5th ed., published Mosby Lynton House, London, pp: 273-288.
- **Roitt, I. ; Brostoff, J. and Male, D. (2001).** Immunology. 6th edition. Mosby, Toronto: pp 291
- **Ruhl, C. E. and Everhart, J. E. (2009).** Elevated serum alanine aminotransferase and gamma-glutamyl transferase and mortality in the united states population. Gastroenterol.,136:477–485.
- **Salem, N. (2009).** Methyl-11C-acetate metabolism in hepatocellular carcinoma. M.S.C. western reserve university. Pp 123.
- **Seliger, B. ; Ritz, U. and Ferrone. (2006).** Molecular mechanisms of HLA class I antigen abnormalities following viral infection and transformation. Int. Canc. J., 118 (1): 129- 133.
- **Sell, S. and Max, E. E. (2001).** Immunology, immunopathology and immunity, 6th edn., ASM Press, Washington: 753 pp.
- **Sergei, I. G. ; Florian, R. G. and Michael, K. (2010).** Immunity, Inflammation, and Cancer. J. cell. Review pp 883-899.
- **Shaoshan, H. ; Lei, H. ; Yingmin, Y. ; Hao, S. ; Xianfeng, Z. and Qingguang, L. (2014).** Activated hepatic stellate cells

promote hepatocellular carcinoma cell migration and invasion via the activation of FAK-MMP9 signaling. *Oncol.*, reports 31: 641-648.

- **Sharma, S. ; Khan, N. and Sultana, S. (2004).** Study on Prevention of two-stage skin carcinogenesis by *Hibiscus rosasinensis* extract and the role of its chemical constituent, gentisic acid, in the inhibition of tumour promotion response and oxidative stress in mice. *Eur. J. Cancer Prev.* 13 (1) : 53-63.
- **Sherlock, S. and Dooley, J. (2001).** Diseases of the liver and biliary system. Blackwell Sci., 11. 1-17.
- **Sherman, C. B. (1991).** Health effects of cigarette smoking. *Clin. Chest Med.*, 12: 643-658.
- **Shevach, E. M. (2002).** CD4⁺ CD25⁺ suppressor T cells. More questions than answers. *Nat. Rev. Immunol.*, 2: 399- 400.
- **Sikora, K. (1999).** The molecular basis of cancer in manual of clinical., 7th edition. Pollock. (editors), Wiley- lisspunlishers. *Oncol.* Chapter 3; pp: 45-61.
- **Simon, H . (2003).** Hepatitis . ADAM . Inc., Pp1-3.
- **Siveen, K. S. ; SakshiSikka, R. ; Xiaoyun, D. ; Jingwen, Z. ; Alan, P. K. ; Benny, K. H. ; Tan, G. S. and Anupam, B. (2014).** Targeting the STAT3 signaling pathway in cancer: Role of synthetic and natural inhibitors. *J. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, Vol. 1845, Issue 2, Pages 136–154.
- **Song, X. ; Elena, V. ; Tatyana, D. ; EyalFima, E. C. ; Daniel, B. ; Yaakov, S. ; Olle, B. ; Shraga, S. ; Charles, A. D. and Ron, N. A. (2003).** Differential effects of IL-1 α and IL-1 β on

tumorigenicity patterns and invasiveness. J. Immunol., 171: 6448-6456.

- **Sook, H. M. ; Tamera, B. ; Michael, A. B. and Roger, J. D. (2016).** Inflammation mediated by JNK in myeloid cells promotes the development of hepatitis and hepatocellular carcinoma, cell reports 15, 19–26.
- **Soygur, T. ; Beduk, Y. ; Yaman, O. ; Yilmaz, E. ; Tokgoz, G. and Gogus, O. (1999).** Analysis of the peripheral blood lymphocyte subsets in patients with bladder carcinoma. J. Urol. Vol. 53(1), 88-91.
- **Sprinzi, M. F and Galle, P. R. (2014).** Immune control in hepatocellular carcinoma development and progression: role of stromal cells. J. semin liver, 34 (04): pp 376-388.
- **Srinivasan, M. ; Sudheer, A. R. ; Pillai, K. R. ; Kumar, P. R. ; Sudhakaran, P. R. and Menon, V. P. (2006).** Influence of ferulic acid on gamma- radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes. Toxicol., 228: 249–258.
- **Srivastava, P. K. (2015).** Neoepitopes of cancers: looking back, looking ahead. J. American Association for Cancer Research 3 (9): pp 969-977.
- **Stephens, J. W. and Humphries, S. E. (2003) .** The molecular genetics of cardiovascular disease: Clinical implications. J. Int. Med . 253: 120-7.
- **Subramaniam, A. ; Muthu, K. ; Shanmugam, E. ; Perumal, F. ; Alamelu, N. ; Xiaoyun, D. ; Shivananju, N. S. ; Kwang, S. A. ; Alan, P. K. ; Benny, K. H. ; Tan, K. M. and Gautam, S. (2013).** Potential role of signal transducer and activator of transcription

(STAT)3 signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma. *J. Biochimica et Biophysica Acta, (BBA) - Reviews on Cancer* Vol. 1835, Issue 1, , Pp 46–60.

- **Suzuki, H. ; Kundig, T. M. ; Furlonger, C. ; Wakeham, A. ; Timms, E. ; Matsuyama, T. and Schmits, R. (1995).** Deregulated T cell activation and autoimmunity in mice lacking interleukin-2 receptor beta. *Sci.*, 268: 1472-1476.
- **Tahir, K. ; Muhammad, S. A. ; Ashfaq, U. R. and Tareq, Z. (2015).** Interleukin 10 (IL-10) promoter-1082 A>G polymorphism and risk of cancer: Meta-analysis. *J. Biol., sci.* Vol. 2(2): 67-73.
- **Taniguchi, K. ; Karin, M. (2014).** IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *J. Seminars in Immunol.*, Vol. 26, Issue 1, Pp 54–74.
- **Tannock, I. F. ; Hill, R. B. ; Bristow, R. J. and Harrington, L. (2005).** The basic science of oncology .4th .Mc Graw –Hill companies, Inc. pp 445.
- **Tao Fu, X. ; Zhi, D. ; Kang, S. ; Zhuo-Jun, Z. ; Zheng-Jun, Z. ; Shao-Lai, Z. ; Yi-Ming, Z. ; Yong-Sheng, X. ; Qi-Man, S. ; Zhen-Bin, D. and Jia, F. (2014).** Macrophage-secreted IL-8 induces epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells by activating the JAK2/STAT3/Snail pathway. *Int. J. oncol.*, 46: 587-596.
- **Tjong, M. Y. ; Van-Der, V. N. ; Ten-Kate, F. J. ; Tjong-A-Hung, S. P. ; Schegget, J. ; Burger, M. P. and Out, T. A. (1999)** . Increased IL-6 and IL-8 levels in cervicovaginal .secretions of patients with cervical cancer . *Gynecologic Oncol., J.* 73(2):285-291.

- **Turan, S. ; Topcu, B. ; Gökçe , E. ; Güran, T. ; Atay, Z. ; Omar, A. ; Akçay, T. ; Bereket, A. (2011).** Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase Z-scores in different types of rickets. J. Clin. Res. Ped. Endo., 3:7-11
- **Vallentin, B. ; Vincent, B. ; Christelle, P. ; Sophie, C. ; Nicolas, Z. ; Matthieu, C. ; Florent, N. ; Catherine, F. ; Eric, V. and Frederic, V. (2015).** Innate lymphoid cells in cancer. J. American Association for Cancer Research 3 (10): pp1109-1114.
- **Vander, A. (2001).** Human physiology. The mechanism of body Function . 8th ed. III. Coordinated Body Function . Circulation . @ the McGraw –Hill Companies, : 375 – 382.
- **Vinay, K. ; Abul, K. A. and Nelson, F. (2005).** The female breast. In: Robbins and Cotran pathological basis of disease. Elsevier Saunders Company, Philadelphia, Pp. 310-311.
- **Von, K. G. ; Lacey, C. J. and Gross, G. (2000).** European course on HPV associated pathology: guidelines for primary care physicians for the diagnosis and management of mo genital warts. Sex Transm Infect., 76: 162.
- **Vojarova, B. ; Stefan, N. ; Lindsay, R. S. ; Saremi, A. ; Prately, R. E. ; Bogardus, C. and Tartanni, P. A. (2002).** High alanine aminotransferases is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. diabetes. 51: 1889-1895.
- **Waetzig, V. and Herdegen, T. (2005).** Context – specific inhibition of JNKs: overcoming the dilemma of protection and damage. Br J. Pharmacol., 26(9):455-461.

- **Walter, M. R. (2002).** Structure of interleukin-10/interleukin-10R1 complex: a paradigm for class 2 cytokine activation. *Immunol. Res.*, 26: 303-308.
- **Wang, J. ; Takashi, T. ; Susumu, H. and Isao, K. (2006).** Anti-inflammatory effect of pitavastatin on NF- κ B activated by TNF- α in hepatocellular carcinoma cells. *J. Pharmaceutical, Soc.* 29(4) 634-639.
- **Wei, W. X. and Anuradha, B. (2006).** The role of cytokines in hepatocellular carcinoma. *J. Leukocyte Biol.* Vol. 80, pp 1197-1213.
- **Williamson, C. S. (2006).** Nutrition in pregnancy. *British Nutrition Foundation Nutr. Bull.*; 31: 28- 59.
- **Wolf, M. ; Schimpl, A. and Hunig, T. (2001).** Control of T cell hyperactivation in IL-2-deficient mice by CD4(+) CD25(-) and CD4(+) CD25(+) T cells: evidence for two distinct regulatory mechanisms. *Euro. J. Immunol.*, 31: 1637-1645.
- **Yang, R. Z. ; Park, S. ; Reagan, W. J. ; Goldstein, R. ; Zhong, S. ; Lawton, M. ; Rajamohan, F. ; Qian, K. ; Liu, L. and Gong, D. W. (2009).** Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum. *hepatol.*, Vol. 49: 598–607.
- **Ya-Yu, W. ; Gin-Ho, L. ; Kwok-Hung, L. ; Jin-Shiung, C. ; Chiun-Ku, L. and Ping-I, H. (2003).** Increased serum concentrations of tumor necrosis factor- α are associated with disease progression and malnutrition in hepatocellular carcinoma. *J. Chin. Med. Association*, Vol. 66 (10) pp 592-597.
- **Yoshimi, K. ; Shingo, T. ; Masahiko, T. ; Hiroaki, M. ; Naoki, K. ; Masakazu, Y. ; Arata, K. ; Masato, K. ; Takanobu Irie, E. ;**

- Miyoshi, Y. ; Sasaki, N. ; Hayashi, S. ; Kawano, A. and Masatsugu, H. (2002). Cyclooxygenase-2 activity altered the cell-surface carbohydrate antigens on colon cancer cells and enhanced liver metastasis , Canc. Res. Vol. 62, 1567–1572.
- **Yue, W. ; Naoya, K. ; Yujin, H. ; Hideo, Y. ; Hiroyoshi, T. ; Tadashi, G. ; Masaru, M. ; Motoyuki, O. ; Shuichiro, S. ; Yasushi, S. ; Yoichi, I. and Masao, O. (2003).** Interleukin-1 Gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. J. Hepatol., Vol. 37, no. 1, 65-71.
 - **Zanetti, M. and Schoenberger, S. P. (2010).** Memory T cells advances in experimental medicine and biology. Spriger science USA. 684: 88-89.56(2) 201. Pp769-775.
 - **Zhang, D. Y. and Scott, L. F. (2012).** Fibrosis-dependent mechanisms of hepatocarcinogenesis. J. hepatol. Vol. 56 (2) Pp 769-775.
 - **Zhang, Y. ; Jian-Song, R. ; Ju-Fang, S. Ni, L. ; Yu-Ting, W. ; Chunfeng, Q. ; Yawei, Z. and Min, D. (2015).** International trends in primary liver cancer incidence from 1973 to 2007. J. BMC Canc. 15(94): pp 1-11.

Summary

Summary

The liver cancer Global health problem, With very limited options for treatment, It is the early detection of the disease the best way to treat , As 93% of liver cancer patients with advanced stages ends in death, Liver is one of the most important members of the body after the heart as the body can not live without liver only a few hours, This study was designed to determine the role of cytokines and their relationship to liver damage in patients with liver cancer in advanced stages, It is the cytokines of the

factors that contribute to the development of many diseases, including cancer, visited tumors Teaching Hospital / Baghdad, And the National Amal Hospital for treatment of tumors / Baghdad, Baghdad Teaching Hospital Department of Surgery, For the period from 25/07/2015 till 25/02/2016, took samples from venous blood of patients with liver cancer by 5 cm 3 and left for half an hour anticoagulant, And offered centrifuge 4000 rpm for 5 minutes was the separation of the serum and geode pipes Abandarov degree - 20 until a test groups as divided into four study groups:

The first group of 30 people infected with primary liver cancer before treatment of tumors educational / Baghdad Hospital, National Amal Hospital for treatment of tumors / Baghdad, aged between 31-67 years included 21 females 9 males.

The second group of 20 people infected with secondary liver cancer before treatment of tumors educational / Baghdad Hospital, National Amal Hospital for treatment of tumors / Baghdad, aged 28-75 years included 12 females 8 males.

Third: The follow-up to the second set after taking a dose chemotherapy.

Fourth: a group composed of 20 healthy people do not suffer from any chronic diseases ages ranged from 28-81 years included 10 females 10 males.

The results showed the presence of a significant increase in the levels of cytokines IL-1a, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-a , The existence of a significant increase in the level of probability of $P < 0.001$ in the level of liver enzymes AST, ALT, ALP and total Bilirubin, While having a significant decrease the level of probability of $P < 0.001$ in the levels of albumin, among patients groups compared to the control group, The results showed

the presence of higher a significant level probability of $P < 0.05$ in liver enzyme levels, AST, ALP, and the levels of TNF-a group of liver cancer among the first group of secondary liver cancer before treatment, The study showed no significant differences in levels of ALT, total bilirubin, albumin, IL-1a, IL-2, IL-6, IL-10, among the first group of liver cancer and a range of secondary liver cancer before treatment, While the results showed no significant difference levels of IL-1a, IL-2, IL-6, IL-10, AST, ALT, ALP, before and after treatment at secondary liver cancer group, The results showed the presence of a significant decrease level $P < 0.05$ levels of total bilirubin, and albumin, the existence of a significant decrease level $P < 0.01$ levels of TNF-a before and after treatment at The study showed the presence of positive and negative associative relationships between IL-1a, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-a, and AST, ALP, ALT, two albums, and bilirubin, On the other hand the presence of positive and negative associative relationships between IL -1a, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-a, with each other.

العنوان بالانكليزي

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education & Scientific

Research Diyala University

College of Education for Pure Science

Department of Biology



The Relationship Between TNF- α ,IL-10 ,IL-6 , IL-2 ,IL-1 α With Some Biochemical parameter in Hepatocellular Carcinoma Patient

A thesis

Submitted to the Council of College of Education for Pure Science/Diyala
University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Biology

(Zoology)

By

Malik Hadi Qadurie

B.Sc. Biology/ Baghdad University (2008)

Supervised by

Prof. Dr. Hamed Mahmode Maged

2016

1438