وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـــــة ديـــــالى
كليـــــــة العلـــــوم
قسم علوم الحياة

الكشف عن علاقة عامل نمو الارومة الليفية- القاعدي بتطور سرطان المبيض اعتماداً على الوسائل المناعية

رسالة مقدمة الى
مجلس كلية العلوم- جامعة ديالى وهي
جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل
هبـــــة ناظـــم كاظـــم
بكالوريـــوس علـــوم حياة
جامعة ديالى/كلية العلوم 2010-2011

بأشراف
أ.م. د انوار عبد الامير محمد كريم

1442هـ العراق 2020م

بسم الله الرحمن الرحيم

((يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسَحُوا
يَفْسَحِ اللَّهُ لَكُمْ وَإِذَا قِيلَ انْشُزُوا فَانْشُزُوا يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ
وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ))

صدق الله العظيم

سورة المجادلة: الآية 11

الاهداء

الى من كرس حياته لأجلنا . . . . الى من افخر به . . . **ابي الغالي**

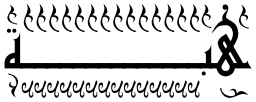
الى اليد الحنونة الدافئة . . . الى مصدر نجاحنا وسعادتنا . . . . **امي الغالية**

الى القلوب الرقيقة . . . . الى شركائي في الفرح والحزن . . . **اخي واخواتي**

الى مهجة قلبي . . . **ابني ريان**

الى مرضى السرطان

الى ارواح الشهداء الطاهرة الزكية . . . شهداء العراق



شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين سبحانه اذ وفقنا برحمته لاتمام هذا العمل له الحمد من قبل ومن بعد وهو على كل شيء قدير والصلاة والسلام على سيدنا محمد وعلى آله الغر الميامين.

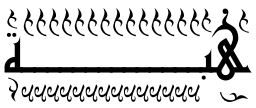
يدعوني واجب العرفان بالجميل ان اتقدم بوافر شكري و امتناني الى مشرفتي الدكتورة انوار عبد الامير محمد كريم لاقتراحها موضوع الدراسة وتوجيهاتها القيمة و متابعتها المتواصلة لخطوات اتمام الرسالة.

واوجه شكري وتقديري الى عمادة كلية العلوم– جامعة ديالى ورئاسة قسم علوم الحياة في توفير كل السبل لانجاح خطة الدراسات العليا في الكلية.

لا يفوتني ان اتقدم بخالص الشكر والامتنان الى منتسبي وحدة سحب الدم في مستشفى الاورام التعليمي ومستشفى بغداد التعليمي / مدينة الطب لمساعدتهم في الحصول على العينات اللازمة لأتمام خطوات الدراسة .

ومن دواعي سروري ان اشكر السيدة لمياء كمال عبد العزيز والسيدة ميعاد محمد علي في وحدة النسيج المرضي (الارشيف) قسم المختبرات التعليمية مدينة الطب.

ولتكن خاتمة شكري مسكاً، أذ انني اتقدم بشكري وتقديري الى عائلتي لصبرهم الطويل ومؤازرتهم لي طيلة مدة الدراسة، واشكر كل من ساعدني بالكلمة والنصيحة والشعور الطيب، اتمنى لهم الصحة ودوام التوفيق وادعو الله عز وجل ان يشفي جميع مرضى السرطان وآخر دعوانا ان الحمد لله رب العالمين.



الخلاصة :.

هدفت هذه الدراسة الى الكشف عن علاقة (صلة) عامل نمو الارومة الليفية –القاعدي basic -fibroblast growth factor(bFGF) بسرطان المبيض باستخدام الوسائل المناعية .

جمعت 110 عينة دم كانت فيها 39 عينة لنساء شخصت اصابتهن بسرطان المبيض, 15عينه لنساء بعد استئصال الورم والعلاج الكيميائي, 16 عينة شخصت لديهن اكياس مبيضية و40 عينة من نساء أصحاء ظاهريا , فضلا عن 40 عينة من مختلف الاورام المبيضية والاكياس المبيضية تم اختيارها للدراسة الكيميائية النسجية المناعية.

أظهرت الدراسة ان فرصة ظهور سرطان المبيض تزداد عن النساء المتقدمات بالعمر, اذ كانت الفئة العمرية الاكثر اصابة بالمرض هي 55≤ عاما بنسبة 40 % وان الفئة العمرية الاقل اصابة هي 25–34 عاما وبنسبة 1,9%. لقد كانت اورام خلايا السطح الظهارية هي اكثر انواع الاورام شيوعا وسجلت 87%. تلتها اورام السدى–الحبل الجنسي بنسبة7,30% فيما سجلت اورام خلايا الانتاشية 5,70%.

برهنت نتائج الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم لتحديد مستوى عامل نمو الارومة الليفة - القاعدي bFGF والمستضد السرطاني(CA125)Cancer antigen125 في عينات المصل هو ارتفاع مستوى bFGF في مصل المصابات بسرطان المبيض مقارنة مع مجموعة السيطرة, مجموعة الاكياس المبيضية ومجموعة النساء بعد استئصال الورم والعلاج الكيميائي حيث اظهر المؤشر ارتفاعا معنويا عاليا قدره 145,20±5,09, وانخفاض مستوى bFGF في مصل المصابات بعد استئصال الورم والعلاج الكيميائي142,00±9,06 مما يشير ذلك الى ان الخلايا الورمية تؤدي دورا مهما في انتاج bFGF .

اظهر متوسط مستوى المستضد السرطاني CA125 للنساء المصابات بسرطان المبيض فروقات معنوية عالية وبمعدل 68.01±2.60 مقارنة مع مجموعة السيطرة, مجموعة الاكياس المبيضية ومجموعة النساء المصابات بسرطان المبيض بعد العلاج الكيميائي, لكن النتائج برهنت ان bFGF اكثر حساسية وخصوصية من CA125.

برهنت نتائج الدراسة الكيميائية النسجية المناعية للكشف عن bFGF ان سرطان خلايا السطح الظهاري ومنه النوع المصلي بعض الحالات ابدت كشفا ضعيفا, حالات ابدت كشفا متوسطا وحالات نادرة اظهرت كشفا قويا, نوع المخاطي ظهرت حالات ذات كشف متوسط واخرى ابدت كشفا قويا, شبيه البطانة الرحمية كانت اما كشف ضعيف او قوي, فقط الخلايا الرائقة اظهرت حالتها التي درست كشفا قويا. اما اورام السدى–الحبل الجنسي ومنها اورام خلايا سرتولي كانت ذات كشف متوسط, اورام الخلايا الجنسية كانت ذات كشف متوسط او قوي جدا. اورام الخلايا الانتاشية ومنها اورام الكيس المحي فقد اعطت كشفا قويا جدا. الكيس اللوتيني النزفي ابدى كشفا ضعيفا بينما الكيس الرحمي اعطى كشفا متوسطا لbFGF, ان نتائج الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم والدراسة الكيميائية النسجية المناعية معا تشير الى ان bFGF ربما يكون مؤشرا حيويا مناسبا لتشخيص سرطان المبيض.

قائمة المحتويات

ت	المحتويات	رقم الصفحة
1	الخلاصة	I
2	قائمة المحتويات	III
3	قائمة الجداول	VI
4	قائمة الاشكال	VI
5	قائمة الملاحق	IX
6	قائمة المختصرات	X
	الفصل الاول/المقدمة	
1	المقدمة	1
1-1	اهداف الدراسة	4
	الفصل الثاني/ استعراض المراجع	
1-2	السرطان	5
2-2	سرطان المبيض	6
1-2-2	اورام خلايا السطح الظهارية	8
1-1-2-2	سرطان المبيض المصلي	10
2-1-2-2	سرطان شبيه بطانة الرحم	11
3-1-2-2	الورم المخاطي	12
4-1-2-2	سرطان الخلية الرائقة	13
5-1-2-2	ورم برينير	14

2-2-2	اورام سدى–الحبل الجنسي	14
1–2–2–2	اورام الخلايا الحبيبة	15
2–2–2–2	الورم الليفي_القرابي	15
3–2–2–2	اورام خلايا سرتولي	16
3–2–2	اورام الخلايا الانتاشية	16
1–3–2–2	الاورام المسخية	17
2–3–2–2	الاورام الانتاشية	17
3–3–2–2	ورم الكيس المحي	17
4–3–2–2	سرطانة المشمائية	18
3–2	تصنيف سرطان المبيض	18
4-2	عامل نمو الارومة الليفية–القاعدي	20
5-2	المستضد السرطاني CA125	23
	الفصل الثالث/المواد وطرائق العمل	
1-3	جمع العينات	25
2-3	المواد وطرائق العمل	26
3-3	الموافقات الاخلاقية	28
4-3	الطرق المختبرية	28
1-4-3	مبدأ الاختبار	28
2-4-3	تحضير الكواشف	29
3-4-3	اضافة العينات	30
4-4-3	حساب النتائج	31
5-3	قياس مستوى المستضد السرطانيCA125	32
1-5-3	تحضير محلول الغسل	32
2-5-3	اضافة العينات	32

3-5-3	حساب النتائج	33
6-3	الدراسة النسجية	33
1-6-3	طريقة الدراسة الكيميائية النسجية المناعية	34
2-6-3	الفحص	36
7-3	التحليل الاحصائي	36
	الفصل الرابع/النتائج والمناقشة	
1-4	توزيع الفئات العمرية في مجموعة المرضى	37
2-4	مقارنة مستوى العمرو bFGF و CA125 بين المجاميع	38
3-4	مقارنة مستوى المؤشرات الحيوية للدراسة بين مجموعة المرضى	40
4-4	انواع سرطان المبيض	42
4-4	مراحل سرطان المبيض	43
6-4	معامل الارتباط بين المؤشرات الحيوية للدراسة	45
7-4	اختبار الحساسية والخصوصية	46
8-4	حساب مستوى bFGF بين مجاميع الدراسة	47
9-4	الدراسة الكيميائية النسجية المناعية	48
1-9-4	نقاط التصبيغ المناعي	49
	الاستنتاجات والتوصيات	
1	الاستنتاجات	63
2	التوصيات	64
	المصادر والملاحق	
	المصادر	65
	الملاحق	83

قائمه الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1-3	المعدات المستخدمة في الدراسة	26
2-3	الادوات المستخدمة في الدراسة	26
3-3	العدد التشخيصية المستخدمة	27
4-3	المواد الكيميائية المستخدمة	27
5-3	العدة المستخدمة في قياس مستوى bFGF	29
6-3	العدة المستخدمة في قياس مستوى CA125	32
1-4	مقارنة بين الفئات العمرية في مجموعة المرضى فقط	38
2-4	مقارنة متوسط مستوى العمر والمؤشرات الحيوية بين مجاميع قيد الدراسة	40
3-4	مقارنة مستوى المؤشرات الحيوية CA125, bFGF مع الفئات العمرية في مجموعة المرضى	41
4-4	يوضح توزيع الانواع الرئيسية والفرعية في مجموعة المرضى	43
5-4	توزيع مجموعة المرضى اعتمادا على مرحلة الورم	44
6-4	مقارنة بين المؤشرين CA125,bFGF	45
7-4	حساب الحساسية والخصوصية للمؤشرات الحيوية CA125, bFGF	47
8-4	مقارنة مستوى bFGF بين مجاميع الدراسة	48

قائمه الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
الشكل 1	مرتبة سرطان المبيض في العراق	8
الشكل 2	الية الافراز الذاتي والمحيطي في البيئة المحيطة بالورم	22
الشكل 3	عملية نقل الاشارة عبر الغشاء البلازمي	23

المقاطع النسجية

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
الشكل 1	مقطع نسجي في غدة البروستات اذ اظهرت الخلايا السرطانية في غدة البروستات كشفا سالبا لbFGF (X40)	52
الشكل 2	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصلي Serous adenocarcinoma اظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا قويا (+++) ل bFGF(X40)($scor3^{+}$)	52
الشكل 3	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصلي Serous adenocarcinoma اظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا متوسطا (++) ل bFGF(X40)($scor3^{+}$)	53
الشكل 4	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصلي Serous adenocarcinoma اظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا ضعيفا (+) ل bFGF(X40)($scor3^{+}$)	53
الشكل 5	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصلي Metastasis serous adenocarcinoma في مرحلة متقدمة بلغت انتشار الورم حيث اظهر النسيج كشفا موجبا قويا (+++) لbFGF (X40)($scor3^{+}$)	54
الشكل 6	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المخاطي Mucinous adenocarcinoma اظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا قويا (+++) ل bFGF(X40) ($scor3^{+}$)	54
الشكل 7	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المخاطي Mucinous adenocarcinoma يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا موجبا متوسطا (++) ل bFGF(X40)($scor2^{+}$)	55

الشكل 8	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع شبيه البطانة الرحمية Endometriod يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا قويا (+++) لـbFGF ($scor3^{+}$)(X40)	55
الشكل 9	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع شبيه البطانة الرحمية Endometriod يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا متوسطا (++) لـbFGF(X40)($scor2^{+}$)	56
الشكل 10	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع اورام الخلايا الرائقة Clear cell tumor أذ اظهر النسيج كشفا قويا(+++) ل bFGF (X40)($scor3^{+}$)	56
الشكل 11	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع الظهاري Adenocarcinoma Metastasis أذ اظهر النسيج كشفا قويا (+++) لـbFGF (X40) ( ) $scor3^{+}$	57
الشكل 12	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع الظهاري Adenocarcinoma أذ اظهر النسيج كشفا متوسطا (++) لـbFGF (X40) ($scor3^{+}$)	57
الشكل 13	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع الظهاري Adenocarcinoma أذ اظهر النسيج كشفا ضعيفا (+) لـbFGF (X40) ($scor3^{+}$)	58
الشكل 14	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع اورام الخلايا الحبيبة Granulosa cell tumor أذ اظهر النسيج كشفا قويا(+++) ل bFGF (X40)($scor3^{+}$)	58
الشكل 15	مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع اورام الخلايا الحبيبة Granulosa cell tumor أذ اظهر النسيج كشفا متوسطا(++) ل bFGF ($scor3^{+}$)(X40)	59
الشكل	مقطع في نسيج سرطان المبيض من النوع سرطان خلايا سرتولي Sertoli	59

16	cell tumor اعطى النسيج كشفا متوسطا(++) ل bFGf (X40)($scor3^+$)	
الشكل 17	مقطع نسجي في سرطان المبيض من النوع سرطان الكيس المحي Yolk sac tumor اذ يظهر النسيج كشفا قويا(+++)لbFGF (X40)($scor3^+$)	60
الشكل 18	مقطع نسجي في سرطان المبيض من النوع سرطان الكيس المحي Yolk sac tumor أذ يظهر النسيج كشفا متوسطا(++) ل bFGF (X40)( ) $scor3^+$	60
الشكل 19	مقطع نسجي في كيس مبيضي من النوع اللوتيني النزفي Hemorrhagic corpous Lutes يلاحظ ان هذا النوع من الاكياس المبيضة تظهر كشفا ضعيفا (+) ل bFGF (X40)($scor3^+$)	61
الشكل 20	مقطع نسجي في كيس مبيضي من النوع شبيه البطانة الرحميةEndometriotic cyst يلاحظ ان هذا النوع من الاكياس المبيضة تظهر كشفا متوسطا (++) ل bFGF (X40)($scor3^+$)	61
الشكل 21	مقطع نسجي في كيس مبيضي من النوع الاورام المسخية Mature cystic teratoma يلاحظ ان هذا النوع من الاكياس المبيضة تظهر كشفا قويا (+++) ل bFGF (X40)($scor3^+$)	62

قائمة الملاحق

رقم الملحق	عنوان الملحق	رقم الصفحة
1	استمارة المعلومات الخاصة بالمرضى	83
2	المنحنى القياسي لـ bFGF	84
3	المنحنى القياسي لـ CA125	85

4	استمارة التطوع والموافقات الاخلاقية	86
5	A-الصفيحة الخاصة بتقدير مستوى عامل نمو الارومة الليفية-القاعدي بتقنية ELISA B-الصفيحة الخاصة بتقدير مستوى CA125	89
6	تسهيل مهمة	90

قائمة المختصرات

الاختصار	المصطلح
bFGF	Basic fibroblast growth factor
CA125	Cancer antigen125
CICs	Cancer initiating cells
CSCs	Cancer stem cell
ELISA	Enzym Linked Immunosorpant Assay
FGFs	Fibroblast growth factors
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetics
FSH	Follicle stimulating hormone
GFs	Growth factors
HRT	Hormonal replacement therapy
LH	Lutenizing hormone
MAP	Mitogen-activated protein
OC	Ovarian cancer
PCR	Polymerase chin reaction
PI3	Phosphoinositide 3

PLCy	Phospholipase C gamma
TVS	Trans Vaginal Sonography
VEGF	Vascular Endothelial growth factor
VEGFR	Vascular Endothelial growth factor receptor
WHO	World Health Organization

الفصل الاول

المقدمة

الفصل الاول

1- المقدمة Introduction :

يعد السرطان احد الاسباب الرئيسة التي تؤدي للوفاة, وبسبب العوامل البيئية كالتلوث pollution والتعرض للاشعاع Radiation فضلا عن نمط الحياة ومسببات العدوى كالتهاب الكبد الفايروسي Hepatitic -C, فايروس الورم الحليمي papilloma virus والملوية البوابية *Helicobacter pylori* ذات العلاقة بالسرطان, لذلك من المتوقع ان تتضاعف نسبة الاصابة بالسرطان في العقدين القادمين (World Health Organization,2013).

لقد شهد العراق ازديادا في عدد حالات السرطان منذ عام 1991 اذ تميل حالات السرطان المسجلة الى الارتفاع في العدد يصاحبه تغايرا في الحالات المسجلة بحسب العمر Age والجنس Sex(Husain وAlwachi, 2014). على الرغم ان هذه الزيادة لم تصل الى المستوى الذي بلغته حالات السرطان في بلدان اخرى بالشرق الاوسط ,الا ان الاسلحة التي استخدمت في حربي الخليج الاول والثاني فضلا عن حرق بعض آبار النفط والتي نجم عنها تلوثا بيئيا في العراق ربما له علاقة في زيادة حالات سرطان الدم الخبيث Hematological malignancies بالاخص لدى الاطفال(Khoshnow وآخرون,2015). كما سجلت حالات سرطان جديدة بلغت في عام 2015 ما يقارب (25269) حالة ,كانت فيها نسبة اصابة الذكور الى الاناث (8:1) مع ملاحظة ان فرصة الاصابة بالسرطان قد ازدادت مع التقدم بالعمر وبلوغ (70) عاما تقريبا, يحتل سرطان الرئة والقصبات lung and bronchus cancer المرتبة الاولى بين انواع السرطان في الرجال ,فيما يظهر سرطان الثدي Breast cancer بالمرتبة الاولى بين عشرة حالات للسرطان الاكثر شيوعا في النساء (Iraqi cancer board,2018).

عند مراجعة المصادر ذات العلاقة بدراسة حالات السرطان في النساء Gynecologyical cancers فقد ظهر ان سرطان المبيض Ovarian cancer(OC) هو اكثر انواع السرطان التي تؤدي الى الوفاة (Mohammed وآخرون,2018 ; Momenimovahed وآخرون,2019).

يشير OC الى مجموعة غير متجانسة من حالات السرطان, اذ تنقسم كل مجموعة بدورها الى انواع عديدة. واعتمادا على التغيرات الجينية فأن OC ينقسم الى نوعين هما:

-النوع الاول Type 1: ويضم حالات سرطان للمبيض تتصف بنموها البطيء slow growing اذ يشخص الورم على المبيض غالبا, ويتطور عن ما يسمى بالورم الحدي Borderline tumor

-النوع الثاني Type2 : يضم حالات للسرطان تنمو بسرعة وتميل الى الانتشار ,بخلاف النوع الاول يصعب تحديد البادرة (السلف)Precursor الذي تطورت عنه(Kurman وShih, 2008). فضلا عن هذه الخصائص تكون بعض انواع OC والتي تسمى بأورام السطح الظهارية surface epithelial tumors وتضم بدورها عدة انواع اكثر حالات OC شيوعا (Ghartimagar وآخرون,2013) . فيما تكون الانواع غير الظهارية Non epithelial tumors اقل شيوعا , خبيثة Malignant غالبا ويشكل علاجها تحديا كبيرا(Boussios وآخرون,2016).

يعتبر التخطيط بالأمواج فوق الصوتية بطريق المهبل Trans vaginal sonography (TVS) فضلا عن المستضد السرطاني Cancer antigen125 (CA125) كمؤشر حيوي Biomarker اكثر الوسائل شيوعا لتشخيص OC (Das وBast, 2008) الا ان المراحل المتقدمة تتسبب في ظهور انتفاخ بارز في المنطقة البطنية (Chandanwale وآخرون

2017,). لقد ادت الحاجة الماسة لمعرفة المؤشر الحيوي الاكثر خصوصية وحساسية في التشخيص المبكر عن OC , الى اعتماد مجموعة من المؤشرات الحيوية تحررها الاورام بصورة هرمونات او مركبات اخرى يتم قياسها في المصل او الادرار او مختلف نسج المريض (Kurman و 2008, Shih ;Muhi و 2014, Abdulhussain).

اظهر استخدام الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA) ارتفاع في مستوى عامل نمو الاوعية الدموية Vascular Endothelial growth factor (VEGF) في مصل المريضات بـ OC, واكدت الدراسة الكيميائية النسجية المناعية Immunohistochemistry (IHC), ان اغلب حالات OC تبدي كشفا موجبا لـVEGF, والاكثر من ذلك برهن تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR) ان بعض حالات OC يتزامن مع الطفرة في الجين الذي يعبر عن احد مستقبلات عامل نمو الاوعية الدموية Vascular endothelial growth factor receptor(VEGFR) (2013, Jumaa).

ان قلة الدراسات التي اهتمت بدراسة المؤشرات الحيوية لدى لنساء المصابات بسرطان المبيض محليا, كان حافزا لتصميم الدراسة الحالية والتي اهتمت بدراسة علاقة عامل نمو الارومة الليفية_القاعدي basic- Fibroblast growth factor (bFGF) ذات العلاقة بتولد الاوعية الدموية Angiogensis بـ OC املا في ان تكون حافزا لمزيد من الدراسات في هذا الجانب, ويمكن توضيح اهداف الدراسة الحالية كما يأتي:.

1- قياس مستوى bFGF في مصل المصابات بسرطان المبيض ومقارنته بمجموعة النساء الاصحاء ظاهريا, مجموعة النساء شخصت لديهن الاكياس المبيضية و مجموعة النساء المصابات بسرطان المبيض بعد الجراحة و العلاج الكيميائي.

2- قياس مستوى CA125 في المصل لدى المجاميع الاربعة والتي ذكرت في اعلاه.

3- استخدام تقنية(IHC) للكشف عن bFGF في المقاطع النسجية لعينات مختلف انواع الاورام المبيضية و الاكياس المبيضية.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثاني

2.استعراض المراجع :

2. 1 السرطان Cancer :

أولّى العديد من الباحثين اهتماما بدراسة السرطان منذ أمد بعيد ,ويعد حتى الوقت الحاضر, مرض عضال يمكن تعريفه بفقدان السيطرة على تكاثر الخلايا مع قابلية هذه الخلايا على الهجرة والانتشار في النسج لأعضاء مجاورة وتحت ظروف خاصة(Maira وآخرون,2007). هناك حالات سرطان كثيرة لها خمس خصائص اساسية اكتسبتها الخلايا الورمية تعكس تغيرات في فسلجتها وتشمل كفاءتها الذاتية على النمو حتى بغياب اشارات تصلها من عوامل النمو Growth factors(GFs),عدم تحسسها للإشارات التي تثبط نموها, قدرتها على تجاوز الموت الخلوي المبرمج(الذوي)Apoptosis, قابليتها على التضاعف غير المحدد, استمرارها في تولد الاوعية الدموية Angiogenesis وغزوها للنسج وتكون نقيلة Metastasis (Hanahan وWeinberg, 2000), غالبا ما تسمى حالات السرطان طبقا للطبقات الجنينة حيث تسمى حالات السرطان التي تشتق خلاياها اما من الطبقة الجنينية الاولى أي الاديم الظاهر Ectoderm أو طبقة الاديم الباطن Endoderm بال Carcinoma كما في معظم انواع السرطان في البالغ ,فيما يطلق على حالات السرطان التي تستمد من الاديم المتوسط Mesoderm بال Sarcoma كما في حالات السرطان التي تظهر في النسج الضامة Connective tissue كالعظام Bones والغضاريف Cartilages (Enzinger, Maira;1970 وآخرون,2007). نتيجة لظهور تقنيات متقدمة رفدت الباحثين بنتائج دقيقة عن المحتوى الجيني Genomic,النسخيات Transcriptomic والتغيرات على مستوى البروتين

للخلايا السرطانية, وصولا الى قبول نظرية وجود خلايا جذعية سرطانية Cancer Stem Cells (CSCs) اصبح ضروريا ان يتضمن أي تصنيف متكامل للسرطان حديثا, الوصف المظهري, التغيرات الوراثية, الخصائص الوظيفية فضلا عن دور الخلايا الجذعية السرطانية(2011,Idikio).اذ تسمى احيانا بخلايا بدأ السرطان Cancer initiating cells(CICs) وهي تنتشر في الكتلة الورمية وتمتاز بمقاومتها لعلاجات السرطان (2015,Albini). كما ثبت ان هذه الخلايا تكون مسؤولة عن عدم الشفاء من السرطان وتكرار الاصابة به وانتقال السرطان الى اعضاء اخرى كذلك مقاومة السرطان للعلاج الكيميائي(Pieterse وآخرون ,2019).

2-2 سرطان المبيض Ovarian Cancer :

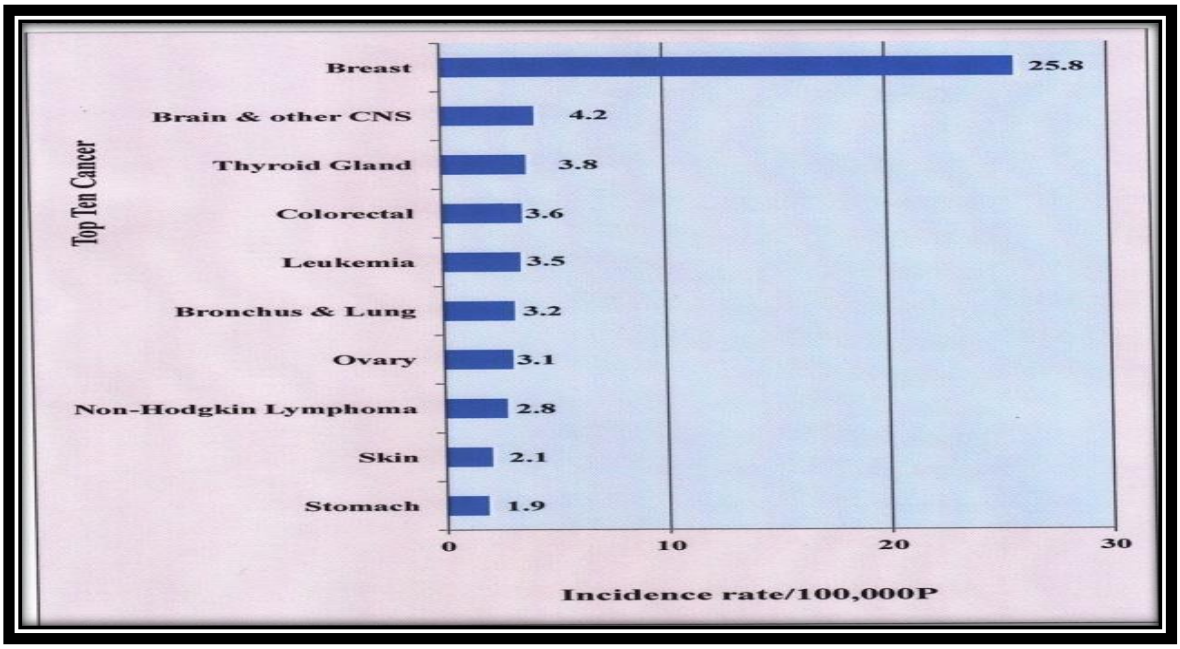
يمثل المبيض أحد اجزاء الجهاز التناسلي الانثوي، ويتعرض الى تغييرات فسلجية بشكل دوري خلال الدورة الحيضية Menstrual Cycle، تغيرات نتيجة التقدم في العمر وتغييرات مرضية، حيث شخصت في المبيض انواع مختلفة من السرطان، ويطلق الباحثين على سرطان المبيض مصطلح القاتل الصامت Silent Killer (Goff وآخرون,2000 ;Bast وآخرون ,2009) ان سرطان المبيض مرض خفي بطبيعته ينشأ ويتطور بدون علامات او اعراض بارزة، ويشخص المرض في اغلب الاحيان عندما يبلغ مراحله المتقدمة (Gubbels وآخرون,2010 ; Vargas,2014). على الرغم ان سرطان عنق الرحم يعد اشد وطأة مقارنة بأنواع السرطان التي تصيب النساء، الا ان سرطان المبيض هو الأسوء مقارنة بسرطان عنق الرحم اذ تكون فرصة المريض على قيد الحياة لمدة طويلة في حالة سرطان المبيض ضعيفة (2018,World Ovarian Cancer Coalition).

يجمع الباحثين على ان سرطان المبيض ينقسم الى ثلاثة انواع, وفي معظم الحالات ينشأ الورم من احد انواع الخلايا الثلاث في المبيض: وهي خلايا السطح الظهارية Surface Epithelial Cell وتكون متعددة القدرة Multipotent، الخلايا الانتاشية Germ Cells وتكون كاملة القدرة Totipotentوخلايا السدى_الحبل الجنسي Sex cord Stromal Cells وتكون متعددة القدرة(Chen وآخرون,2003 ; Kumar وآخرون,2007)

اظهرت دراسة تناولت حالات سرطان المبيض في البلدان الاسيوية، ان الصين احتلت المرتبة الاولى بين هذه البلدان وبلغت عدد الحالات في عام 2012 حوالي 34575 حالة، ثم تليها الهند، إندونيسيا، اليابان واخيراً الباكستان، وثبت زيادة في حالات سرطان المبيض في بلدان تتصف بانخفاض مؤشر التنمية البشرية فيها وزيادة عدد المسنين وفقدان الوسائل التي تساعد في التشخيص المبكر عن المرض (Razi وآخرون,2016). اما في العراق كان سرطان المبيض في عام 2015 بالمرتبة السابعة من بين عشرة انواع من السرطان الاكثر ظهوراً عند النساء صورة رقم 1 (2018,Iraqi cancer board). بينما في المرتبة الخامسة بين النساء في الفترة ما بين 2006-2014 في محافظة السليمانية– شمال العراق (Khoshnaw وآخرون,2015).سجلت دراسة حوالي 986 حالة سرطان مبيض للفترة ما بين 2000–2013 في الاردن (Khader وآخرون,2018).يأتي سرطان المبيض بالمرتبة السابعة بين انواع السرطان في العالم، والمرتبة الثامنة بين انواع السرطان والتي تؤدي للوفاة سنوياً (World 2018,Ovarian Cancer Coalition). الا ان السيطرة على المرض وعلاجه لا يزال يشكل تحدياً كبيراً، حيث يضم سرطان المبيض ,مجموعة غير متجانسة من حالات السرطان التي تصيب المبيض غالباً ما تختلف في أعراضها وطرق تشخيصها (Karst و2009,Drapkin) هناك عوامل خطرة كثيرة لها علاقة بالمرض كثيراً منها وراثية واخرى لها علاقة بالعمر Age،

العرق Ethnicity، التاريخ العائلي Family history للإصابة بالسرطان وحتى عوامل بيئية Environmental factors(Vargas,2014). اما الجانب الاكثر خطراً في سرطان المبيض يتمثل بتكرار الاصابة بالمرض حتى بعد استئصال الورم جراحياً، حيث يعود المرض ثانياً لينتشر سريعاً في اعضاء اخرى(Pieters وآخرون,2019).

صورة رقم (1): يوضح مرتبة سرطان المبيض في العراق(Iraqi Cancer board,2018)



1.2.2اورام خلايا السطح الظهارية Surface Epithelial Cells tumors

يعتبر هذا النوع اكثر انواع سرطان المبيض شيوعاً ويضم اوراماً خبيثة تسبب الوفاة في كثيرٍ من الحالات مقارنة بأورام عنق الرحم (Ozols وآخرون,2004; Prat وآخرون,2012). يشكل هذا النوع حوالي 90% من اورام المبيض(DeIaco وآخرون,2013 ; Torreوآخرون,2018) يظهر في النساء في سن اليأس والاعمار المتقدمة(Chen وآخرون2003;Ozols وآخرون,2004). لتفسير ظهور هذه الاورام اقترحت نظرية, بينت ان باستمرار الاباضة Ovulation دون ان تتخللها فترات حمل ينقطع فيها تحرر البيضة من المبيض تزداد فرصة

ظهور الاورام، واضافة يعقب الاباضة انقساماً سريعاً و انغلاف Invagination في خلايا السطح الظهاري وظهور فلح (شق) Cleft على سطح المبيض تنتهي بدمج ما كان يحيط بالبيضة الناضجة بسدى المبيض (1971,Fathalla).

لم يقتصر اهتمام الباحثين في هذا المجال بالإباضة فقط، بل تعدى ذلك ليشمل محاولات للتحري عن تأثير الهرمونات الموجهة للمناسل Gonadotropin، الهرمون المحفز للجريب Follicle-Stimulating Hormone (FSH)، الهرمون اللوتيني luteinizing hormone (LH) فضلاً عن تأثير الاستروجين Estrogen والبروجسترون Progesterone ، فقد ثبت ان البروجسترون يقلل من خطر ظهور الاورام فيما يزيد التركيز العالي للاستروجين في السائل الجريبي Follicular Fluid عند الاباضة من خطر ظهور الاورام(Shuk– Risch, 2003,Mei;1998).

برهنت دراسة خارج جسم الحي *In Vitro* خضعت فيها خط خلايا سرطان المبيض من النوع OC-11-7-VGH الى تراكيز مختلفة من الاستروجين والبروجسترون ان كلا الهرمونين يقللان من نمو وتكاثر الخلايا السرطانية وذلك من خلال تأثيرها المثبط في جينات *Bax, Bcl_2* ذات العلاقة بموت الخلايا المبرمج (الذوي) Apoptosis (Chao وآخرون,2005). فضلاً عن ذلك تخضع خلايا سطح المبيض بعد الاباضة لتأثير حركيات خلوية Cytokines وعوامل الاكسدة والتي قد تتسبب بحدوث ضرر في DNA(Krast و Drapkin,2009). أكدت نتائج الدراسات ذات العلاقة بوبائية سرطان المبيض ان خطر ظهور هذا السرطان يتضائل في النساء بتكرار الحمل والانجاب واعتماد الرضاعة الطبيعية (Gubbles وآخرون,2010). لقد اتضح ان الاضطرابات الهرمونية في النساء عند بلوغ سن اليأس واستعمال العلاج الهرموني البديل Hormonal replacement therapy (HRT) يزيد من خطر ظهور اورام المبيض، بينما

استعمال حبوب منع الحمل Oral contraceptives ولمدة تتعدى ثلاث سنوات ربما يقلل من خطر ظهور اورام المبيض (2017,Aljohani).

يضم سرطان خلايا السطح الظهارية في المبيض عدة انواع وهي :

1.1.2.2سرطان المبيض المصلي: Serous ovarian cancer

يشكل هذا النوع نسبة كبيرة بين انواع سرطان الخلايا الظهارية في المبيض حيث يشكل حوالي 70% من حالات السرطان هذه ويشخص المرض في مراحله المتقدمة عادة (Brown و2009,Palmer ; 2012,Prat).يكون الورم بشكل كتلة كبيرة وفي حوالي ثلثي الحالات لهذا الورم تظهر في كلا المبيضين (الايمن والايسر) مع فرصة تكون نقائل Metastases في الاجزاء المحيطة بالكتلة، بشكل عقيدات مندمجة تبدو بلون ابيض يميل الى السنجابي (Rosen وآخرون,2010).لقد ساد الاعتقاد لوقت طويل ان خلايا سطح المبيض الظهارية هي الاصل في نشوء هذا الورم، الا ان الباحثون برهنوا ان جزء قناة القاصي Distal Fallopian Tube والمتمثل بالخمل Fambrae هو الاصل في نشوء الورم (Zhang;2013,Fathalla وآخرون,2015) يقترن ظهور هذا النوع من الاورام بطفرات في جين P_{53}، وتضرر المادة الوراثية الـ DNA، تطرأ هذه التغييرات في طبقة الخلايا الظهارية المبطنة لقناة فالوب، حيث تبدي الخلايا المتضررة تفاعلاً مناعياً قوياً لـP_{53} وتكتسب قدرة عالية على التكاثر وفي النهاية تصبح الخلايا الداخل ظهارية- الانبوبية Tubul- Intraepithelial Cells خلايا سرطانية مصلية غازية Invasive Serous Carcinoma ويمكن لها ان تصل الى سطح المبيض او الصفاق Peritoneum (Krast و2009, Drapkin; Zhangوآخرون,2015).لم يتلقَ الرأي القاضي ان خمل قناة فالوب هو الاصل في

نشوء الاورام المصلية لان حالات قليلة لهذا الورم في مراحله المتقدمة شخصت في قناة فالوب، الا ان ما برهن على صحة هذا الرأي هو أن نشوء الورم حتى في مراحله المبكرة يقترن بطفرة في جين لـ P_{53} وهذه الطفرة تزيد من احتمال حدوث استحالة Transformation في الخلايا وتحولها الى خلايا خبيثة (Soong وآخرون,2018).

يظهر السرطان المصلي في الاساس بصورة نوعين مختلفين من الاورام وهما سرطان مصلي عالي الدرجة .High grade serous C وسرطان واطئ الدرجة Low grade S.C (Rosenوآخرون,2010 ; 2012,Prat). يتألف الورم المصلي عالي الدرجة من خلايا مصلية Serous تكون بشكل صلد Soild وحليمي Papillary وهذه الخلايا تكون متوسطة الحجم ولها نوى غير مالوفة Atypia (Rosen وآخرون ,2010) كما يشخص في الورم وعلى نحو متكرر خلايا غريبة وعملاقة Giant Cells واجسام رملية Psammoma Bodies (2012,Prat الفتلاوي والعارضي ، 2018).يكون الورم المصلي واطئ الدرجة اقل شيوعاً مقارنة بالنوع الاول ويتألف من حليمات صغيرة والخلايا الورمية لها نوى تتميز بشكلها الثابت، وتظهر فيها الاجسام الرملية فيها بكثرة مقارنة بالنوع الاول (2012,Prat).

2.1.2.2سرطان شبيه بطانة الرحم Endometrioid Cancer:

يشكل هذا الورم حوالي 10% من بين كل انواع سرطان المبيض (2012,Prat ; الفتلاوي والعارضي،2018)، يظهر الورم بشكل كيس او بصورة نمو صلد (Kumar وآخرون,2008). يكون الكيس الورمي احادي التجويف Unilocular بأستثناء حالات قليلة يكون فيها الورم متعدد التجاويف Multiocular (2012,Terada). قد تتزامن الورم من هذا النوع مع سرطان الرحم في حوالي 40% من الحالات (Eswari وآخرون,2011; 2012,Terada). يشخص الورم في اكثر الاحيان في مراحله المبكرة، عدا حالات قليلة يكون فيها الورم عند التشخيص عالي الدرجة

(مرحلة متقدمة) (2012,Terada) .فضلاً عن ذلك يمكن تشخيص الورم في المبيضين الايمن والايسر (ثنائي الجانب) في حوالي 25% من الحالات(2012,Prat). يظهر في الفحص النسجي للورم شبيه بطانة الرحم غدد نبيبية تماثل تلك التي توجد في بطانة الرحم Endometrium(2012, Terada; 2008, Soslow). لقد اطلق بعض الباحثين ما يسمى بـ البؤر Foci على التجمعات التي تشبه بطانة الرحم وهي تبطن عادة بخلايا مكعبة Cuboidalاو عمودية Columnar لها نوى قاعدية وتكون متطاولة ويميز غالباً في البؤر نزف Hemorrahge (الفتلاوي والعرضي، 2018).يقترن الورم شبيه بطانة الرحم في جين *PTEN* الكابت للسرطان غالباً(Kumar وآخرون,2006; 2012,Prat)

3.1.2.2الورم المخاطي Mucinous Tumor:

يمثل نوعاً غير شائع من انواع سرطان المبيض (2008,Soslow). اذ يشكل اقل من 3% من هذه الاورام(2008,Soslow ; Karst وDrapkin,2009 ; Hussein و Salai,2019).يشخص الورم المخاطي بثلاثة حالات وهي النوع الحميد Benign، النوع الحدي Borderline والخبيث Malignant (Ghartimagar وآخرون,2013).يماثل الوصف العياني للورم المخاطي بدرجة كبيرة ما هو عليه في الورم المصلي الا ان الورم المخاطي يبدو اكبر حجماً والكيس الورمي يكون متعدد التجاويف التي تنفصل عن بعضها بحواجز رقيقة كما يشخص في سايتوبلازم بعض الخلايا الورمية مادة مخاطية، ما يضفي على الورم مظهراً نسجياً تشبه البطانة الرحمية (2008,Soslow). يلاحظ في تجاويف الورم المخاطي مادة مخاطية شاحبة تشتمل على خلايا متحطمة ومتنخرة (الفتلاوي والعارضي،2018).

لاحظ الباحث في الفحص النسجي للورم المخاطي ظهور حليمات قصيرة تتألف من خلايا ظهارية تظهر بشكل غير مألوف ومتباين فضلاً عن ذلك تبدي تفاعلاً مناعياً قوياً لـ CK7

(Stanescuوآخرون,2015). ان الخلايا الظهارية الفارزة للمخاط تماثل الى حد كبير كل من الخلايا الظهارية لجزء المعدة البوابي او المعي، بطانة عنق الرحم والاكياس الرحمية (Krast و2009,Drapkin; 2013,Ghartimageat).

4.1.2.2 سرطان الخلية الرائقة Clear Cell Carcinoma:

يظهر الورم بصورة كتلة كبيرة في الحوض ويشكل اقل من 5% من انواع سرطان المبيض (Pectasidesوآخرون,2006)، بينما يشكل 10% فقط من اورام خلايا السطح الظهارية (2012,Prat). للورم مميزات سريرية فريدة حظيت باهتمام الباحثين، غالباً ما تشخص الحالات في المرحلة الاولى Stage I من ظهور الورم وقد ثبت مقاومة المصابات للعلاج الكيميائي المستخدم في علاج اورام ظهارية اخرى كالأورام المصلية ولعل هذا ما يفسر تكرار ظهور الورم في حوالي 27%–30% من الحالات (Sugiyama وآخرون,2000).

يقترن ظهور هذا الورم من انتباذ بطانة الرحم المبيضي Cho) Ovarian endometrosis و Win;2016,Lin وآخرون,2016)، كما يظهر الورم في كلا المبيضين (ثنائي الجانب) (Winوآخرون,2016).

اقترحت WHO في عام 2003 معياراً محدداً لكل نوع من اورام خلايا السطح الظهارية في المبيض، واكدت ان سرطان الخلية الرائقة تتألف من خلايا تحتوي على الكلايكوجين ونوعاً من الخلايا ذات نوى مميزة سميت بـ Hobnail (Clarke وآخرون,2011). يجمع التركيب النسجي للورم بين المظهر الحليمي بدرجة قليلة، النبيبي الكيسي Tubulocystic والصلد Solid (Stanescuوآخرون,2015).

5.1.2.2 ورم برنير Brenner Tumor :

يشكل هذا الورم حوالي 1% من بين انواع اورام السطح الظهارية (SEC) حيث يصنف الى ثلاث انواع وهي حميد Benign، حدي Borderline، وخبيث Malignant، ان اغلب الاورام من هذا النوع تكون حميدة او حدية فيما تشكل الخبيثة حوالي 5% (Austin وآخرون,1987)

يعتبر هذا النوع نادراً وصف من قبل McNanghton Jones عام (1898) ومن ثم اطلق عليها Brenner من قبل Fritz عام (1907) وينشأ هذا الورم من Mulerian duct (Han وآخرون,2015).يكون الورم متغايراً بالحجم حيث يتراوح من 5سم- 30سم وعلى جانب واحد، يتصف التركيب النسجي للورم اعشاش Nests من الخلايا الورمية يطوقها نسيج ليفي Fibrous tissue (Zheng وHeller,2019).

2.2.2اورام السدى- الحبل الجنسي Sex cord- Stromal tumor:

يشكل هذا النوع من الاورام حوالي 8% من اورام المبيض المختلفة وقد سجلت حالات ظهرت فيها هذه الاورام في مختلف الفئات العمرية (Outwater وآخرون,1998). سميت هذه الاورام باسم اورام السدى- الحبل الجنسي، لانها تنشأ من نوعين من الخلايا، النوع الاول وهي خلايا السدى وتضم الارومة الليفية Fibroblast، خلايا القراب Theca cell وخلايا لايدك Leydig Cell، اما النوع الثاني من الخلايا تشمل الخلايا الحبيبية Granulosa cell وخلايا سرتولي Sertoli (Outwater وآخرون,1998; Young,2005), يختلف نشوء هذان النوعان من الخلايا خلال مراحل النمو الجنيني، اذ تشتق خلايا السدى من الحرفين التناسليين Genital Ridges، بينما تشتق النوع الثاني من الخلايا من الحبال الجنسية (Sadler وآخرون,2015).

تضم اورام السدى – الحبل الجنسي انواعاً متعددة وهي :

1,2.2.2اورام الخلايا الحبيبية Granulosa Cell Tumors :

اكثر انواع اورام السدى – الحبل الجنسي شيوعاً, وتظهر غالباً بنوعين هما اورام الخلايا الحبيبية اليفعي Juvenil Granulosa T و اورام الخلايا الحبيبية في البالغ Adult Granulosa Tumor والتي تكون اكثر شيوعاً من النوع الاول (Haroon وآخرون,2013). على الرغم ان كلا النوعين متشابهان من حيث المظهر التشريحي، الورم محدد بجانب واحد Unilateral وافراز الاستروجين الا انهما يختلفان في احتمال تطورهما الى ورم خبيث وتأثيراتهما الهرمونية تختلف باختلاف الاعمار (Outwater وآخرون,1998).يظهر كلا النوعين من اورام الخلايا الحبيبية في الخصية مع ملاحظة ان النوع اليفعي يكون اكثر شيوعاً ويتكرر في الاعمار الصغيرة غالباً (2005,Young),يتسبب ورم الخلايا الحبيبية في البالغ بزيادة افراز هرمون الاستروجين والذي ينجم عنه نزف غير منتظم وفرط تنسج بطانة الرحم Endometrial hyperplasia الذي قد يتطور الى سرطان الرحم، اما الورم اليفعي ينجم عنه ما يسمى بـ البلوغ المبكر او الكاذب Pseudo Precocious Puberty Outwaterوآخرون,1998), يقترن ظهور ورم الخلايا الحبيبية في المناسل الخصية والمبيض مع متلازمة مافوتشي Maffucci syndrom ومرض اولييه Ollier disease (Outwater وآخرون,1998;2005,Young).

2.2.2.2 الورم الليفي– القرابي Thecoma- Fibroma Tumor :

يشكل هذا النوع من الاورام حوالي نصف حالات الاصابة باورام السدى– الحبل الجنسي وحوالي 4%–6% من اورام المبيض، كما تكون هذه الاورام مدى واسع من الاورام الحميدة وتشمل الاورام القرابية Thecoma التي تتصف بخلايا غنية بالدهون، فارزة للاستروجين ويندر

فيها ظهور الالياف فضلاً عن اورام ليفية بصورة كاملة ينعدم ظهور الخلايا القرابية فيها (Outwater وآخرون,1998). يقترن الورم القرابي او الليفي القرابي مع فرط تنسج بطانة الرحم وسرطان عنق الرحم (Haroon وآخرون,2013).

3.2.2.2 اورام خلايا سرتولي Sertoli Cell Tumors :

تتألف الاورام من هذا النوع من خلايا سرتولي وخلايا لايدك والارومة الليفية (Outwaterوآخرون,1998), يكون لاورام سرتولي تركيباً نسجياً متشابهاً في كلاً من الخصية والمبيض اذ يتألف الورم من نبيبات تتجمع بصورة فصيصات يفصلها نسيج ضام ليفي (Chandanwale ; 2005,Young وآخرون,2017). كما تظهر في اورام خلايا سرتولي خلايا غنية بالدهون وقد سجلت في حالات قليلة نوعاً من الاورام سميت بأورام سرتولي– لايدك، حيث يتألف الورم من عقيدات تتكون من خلايا سرتولي غامقة اللون، يخلط معها عدد قليل من خلايا لايدك، وفي حالات كثيرة تقترن اورام خلايا سرتولي مع متلازمة بوتز– جيغرز Peutz-Jeghers (2005,Young).

3.2.2 اورام الخلايا الانتاشية Germinal Cells Tumors :

تشكل اورام الخلايا الانتاشية حوالي 5% من مجموع اورام المبيض، وقد سجلت حالات ظهرت فيها هذه الاورام في سن المراهقة(Low وآخرون,2012) تضم هذه المجموعة انواعاً غير متجانسة من الاورام النادرة بعضها يكون حميداً وبعضها الاخر خبيثاً، هناك العديد من اورام الخلايا الانتاشية التي يشتمل كل نوع من انواعها على نسج متنوعة (Deka وآخرون,2016).

سجلت الدراسات الانواع الاتية من اورام الخلايا الانتاشية:.

1.3.2.2الاورام المسخية Teratoma:

يكون اكثر انواع اورام الخلايا الانتاشية شيوعاً ويظهر بشكل يسمى بـ اورام مسخية ناضجة Mature teratoma (Akbulut وآخرون,2006)، واورام المسخية غير ناضجة Immature teratoma (Sharmaو Chaliha,2014; Hasdemir وآخرون,2016)تكون الاورام المسخية حميدة غالباً وخبيثة في حالات نادرة (Akbulutواخرون,2006), اظهرت المقاطع النسجية ان الاورام المسخية الناضجة تتألف من نسج تشتق من الطبقات الجنينية وهي الاديم الظاهر Actoderm، مثلا احد اجزاء الجلد او مشتقاته او ربما نسيج عصبي، الاديم المتوسط Mesoderm مثلاً نسيج عضلي وطبقة الاديم الباطن Endoderm مثلا نسيج يماثل البطانة الظهارية لأجزاء من الممرات التنفسية (Akbulut وآخرون,2006).

2.3.2.2الاورام الانتاشية Dysgerminoma:

يكون هذا الورم خبيثاً ويظهر في اعمار تتراوح مابين 20–30 عاماً في اكثر الاحيان (Jain وآخرون,2013;Deka وآخرون,2016). يحاط الورم بمحفظة وبينت المقاطع النسجية ظهور اعشاش Nests من الخلايا الورمية التي تنفصل عن بعضها بنسيج ضام ليفي وللخلايا الورمية نوى بارزة او نواتين احياناً، ويكون سايتوبلازم الخلايا حبيبياً تتميز فيه فجوات متعددة (Jain وآخرون,2013; Chandanwale وآخرون,2017).

3.3.2.2ورم الكيس المحي Yolk Sac Tumor:

يسمى هذا الورم ايضاً بورم جيب الاديم الباطن Endodermal Sinus Tumor ويكون خبيثاً غالباً، ويرافق ظهور هذا الورم ارتفاع في مستوى البروتين الجنيني – الفا Alpha Fetoprotein (Sharmaو Chaliha,2014) شخصت في هذا الورم كييسات Microcysts

تتألف من خلايا مكعبة Cuboidal Cell وظهرت في سايتوبلازم الخلايا الورمية وخارجها قطيرات اعطت كشفاً موجباً Periodic Acid Schiff Reagent (PAS) فضلاً عن ذلك تميزت اورام الكيس المحي بوجود اجسام شيلر دوفال Schiller Duval bodies(Deka وآخرون,2016; Chandanwale وآخرون,2017)

4.3.2.2سرطانة مشيمائية ChorioCarcinoma :

عرف هذا الورم بظهوره مرافقاً للانواع الاخرى من اورام الخلايا الانتاشية حتى وصف مع اورام الخلايا الانتاشية المختلطة MixedGermCellTumors (Sharmaو Chaliha,2014) يندر ظهور هذا الورم مجرداً من انواع الاورام الانتاشية الاخرى (Hayashiواخرون,2015) يميل السرطان المشيمائي الى ظهور في العقود الثلاثة الاولى للعمر ويماثل وصفه النسجي سرطان المشيمة، اذ يتألف من نوعين من الخلايا وهي الارومة الغاذية الخلوية Cytotrophoblast والارومة الغاذية المدمج Syncytiotrrophoblast (Kumar وآخرون,2018). لقد بينت الدراسة الكيميائية النسجية المناعية ان الخلايا الورمية لهذا النوع تبدي كشفاً موجباً للمستضدات على سطوح الخلايا الظهارية فضلاً عن ذلك اظهرت خلايا الارومة الغاذية المدمج كشفاً موجباً لهرمون موجه المشيمي – البشري بيتا β- Human Chorion Gonadotropin (Hayashi وآخرون,2015).

3.2 تصنيف سرطان المبيض حسب الاتحاد الدولي لأمراض النساء والتوليد International Federation of Gynaecology and Obstetrics(FIGO):

يصنف OC الى اربع مراحل حسب التصنيف المعتمد من قبل الاتحاد الدولي لأمراض النساء والتوليد(Chen وآخرون,2003) :

1	لا يمكن تحديد الورم الرئيسي	TX
2	لا يوجد دليل على الورم الرئيسي	To
3	الورم مقتصر على المبيض (واحد او كلاهما)	Stage l T1
4	الورم مقتصر على مبيض واحد، لا يظهر الورم على سطح المبيض، ولا توجد خلايا خبيثة منتشرة في التجويف البريتوني.	T1a lA
5	يظهر الورم في المبيض ولا يظهر على سطح المبيض ولا توجد خلايا خبيثة منتشرة بالتجويف البريتوني.	T1b lB
6	يقتصر وجود الورم على احد المبيضين او كلاهما، ووجود الورم على سطح المبيض ويلاحظ وجود خلايا خبيثة منتشرة.	T1c lC
7	الورم يظهر في أحد المبيضين أو كلاهما ويمتد الى الحوض	stageII T2
8	الورم يمتد الى الرحم او الانبوب الرحمي ولا توجد خلايا خبيثة منتشرة في التجويف البريتوني.	T2a IIA
9	امتداد الورم الى انسجة الحوض الاخرى	T2b IIB
10	يوجد الورم على احد المبيضين او كلاهما مع وجود الورم الخبيث خارج الحوض .	Stage III T3
11	انتشار الورم الخبيث الى تجويف البريتوني الى ما بعد منطقة الحوض.	T3a III A
12	انتشار الورم الخبيث بتجويف البريتوني الى مسافة ابعد خلف الحوض.	T3b III B
13	انتشار الورم الخبيث الى تجويف البريتوني الى العقد الليمفاوية.	T3c III C
14	انتشار الورم الخبيث الى اجزاء اخرى بعيداً عن موقع الاصابة	Stage IV

4.2عامل نمو الارومة الليفية– القاعدي (fgf-2) Basic Fibroblast- Growth Factor bFGF:

يشار الى عامل نمو الارومة الليفية– القاعديbFGF احياناً بعامل نمو الارومة الليفية– الثاني fgf–2 وهو يمثل واحدا من عوامل النمو Growth Factors (GFs) والتي تضم بدورها مجموعة متنوعة من متعددات الببتيد Polypeptides تعرف بتأثيرها في تكاثر الخلايا، وتتميز عوامل النمو عن الهرمونات الشائعة الاخرى بأن كل من موضع بنائها (تخليقها)Synthesis ومواضع ظهور تأثيرها لا يتحددان بنسيج معين، فضلاً عن ذلك غالباً ما يظهر Gfs بصورة اشارات جانبية الافراز Paracrine او ذاتية الافراز Autocrine حيث تظهر التأثيرات في المواقع التي تخلق فيها نفسها شكل رقم (2) (Carpenterو1990,Cohen) .

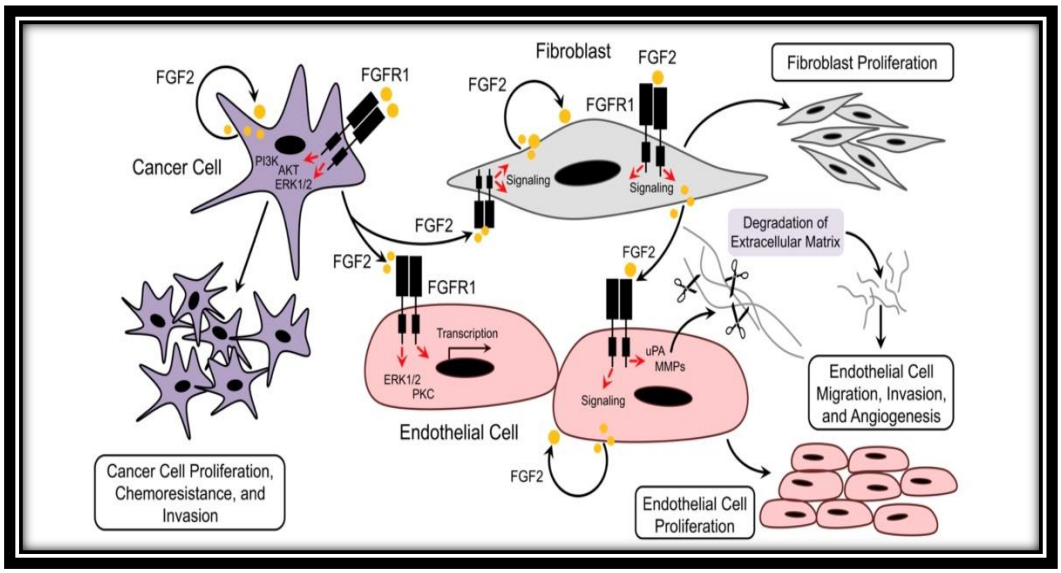
تمت تنقية bFGF من مستخلصات الغدة النخامية Pituitary Gland في الابقار وشخصت كمتعدد ببتيد يتألف من حوالي مائة وستة واربعون (146) حامضاً امينياً (1984,Böhlen)، ثم تبين ان bFGF يمثل عنصراً (فرداً) من مجموعة تشتمل على قرابة ثلاثة وعشرون عنصراً يطلق عليها بعائلة (مجموعة) عوامل نمو الارومة الليفية (FGFS) Fibroblast growth factors (Beenkenو2009,Mohammed) . كما برهنت الدراسات ان معظم النسج تنتج bFGF وتطلقها الى خارج الخلية عبر غشائها البلازمي (Prudorsky واخرون,2013; Ornitz و2015,Itoh ;Steringer و2018,Nickel).

وصفت للـ bFGF اربعة مستقبلات Receptors وهي الاول ويسمى FGFR1(Flg)، الثاني ويسمى بـ FGFR2 (bek)، الثالث FGFR3 ويسمى FGFR3 والرابع والذي يسمى بـ FGFR4 (Bikflaviوآخرون,1997) وتبين ان هذه المستقبلات من نوع Tyrosin Kinase (Lemmon و2010, Schlessing) يكون ارتباط bFGF بمستقبلاته على سطح

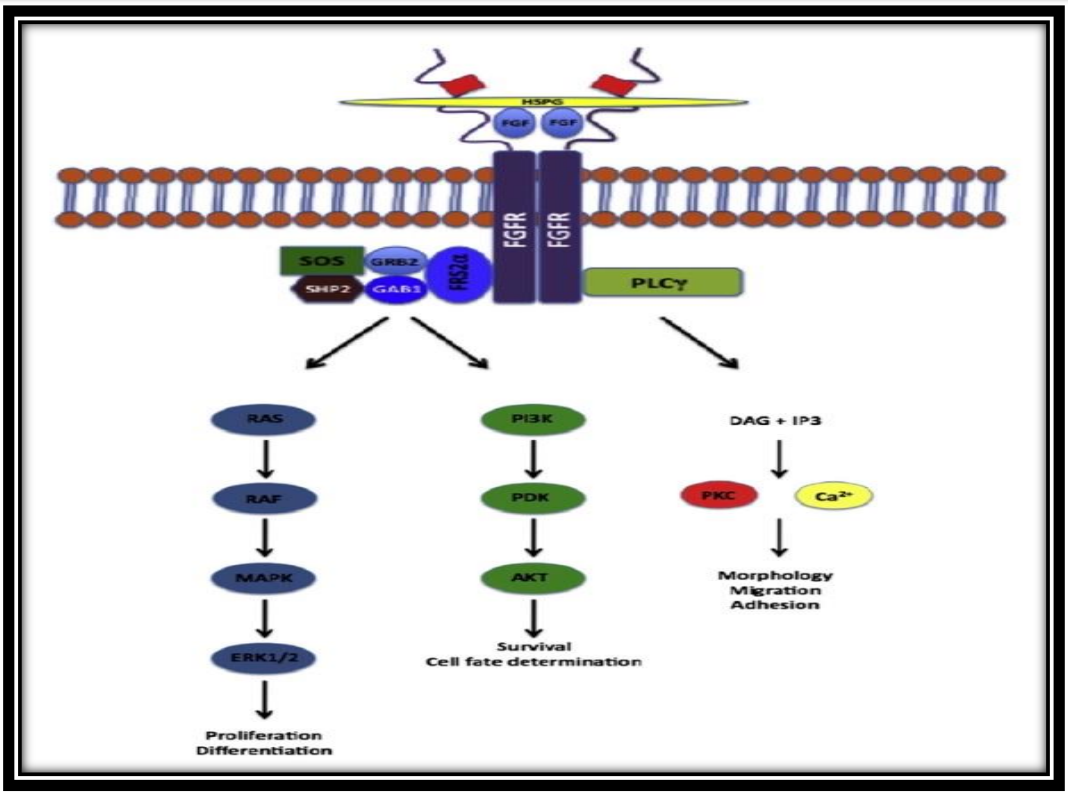
الخلايا بمثابة الشرارة التي ينتج عنها تنشيط عدة مسالك او اشارات منها RAS/MAP kinase pathway(mitogen-activating protein), AKT \ Phosphoinositide pathway(PLCy), Phospholipase C gamma pathway(PI3)kinase وتنشيط (تفعيل) هذه المسالك تؤثر في فعاليات الخلايا (Ornitzو Itoh,2015)، وصفت تنشيط هذه المسالك وانتقال الاشارات في الاورام السرطانية (Meng وآخرون,2019) شكل رقم (3).

يظهر تأثير bFGF في العديد من الفعاليات الحيوية منها تكاثر الخلايا Prolferation، هجرة الخلايا Migration، ديمومة الخلايا survival, تولد الاوعية الدموية Angiogenesis فضلاً عن تمايز الخلايا Differentiation (Zhang وآخرون,2009; Mullerوآخرون,2012). لقد ظهر تأثير bFGF في بدأ تمايز الخلايا العصبية القوقعية Cochlear ganglion Neurins في الفئران (Peter وآخرون,1992)، كما لها دور في تمايز الخلايا الظهارية العصبية Neuroepithelial cells الى خلايا عصبية Neurons وخلايا دبقية Glia (Murphy وآخرون,1990). لقد ظهر ان دور bFGF وتأثيره في الفعاليات الحيوية للخلايا لا يقتصر على المراحل المبكرة للتكوين الجنيني، وانما تمتد لتشمل حتى البالغ (Even-Chenو Barak, 2019) اذ ظهرت علاقة bFGF في تحفيز نمو الجريبات المبيضية وتثبيط رتقها Atresia (Lin وآخرون,2019). يتعدى دور bFGF في الظروف الطبيعية، بل يمتد ليشمل حتى حالات مرضية كما هو الحال في حالات السرطان اذ ظهر فرط التعبير Over Expression عن bFGF نتيجة لعدة اسباب منها التضخم الجيني Gene amplification,انتقال الكروموسومات Chromosomal transport فضلاً عن الطفرات Mutation في انواع من السرطان منها سرطان المثانة Urinary bladder Cancer ، سرطان الثدي Breast cancer، سرطان البروستات Prostat Cancer، وسرطان الرئة

Lung Cancer وقد ظهرت ادلة اكدت ان افراد عائلة FGFs ومستقبلاتها FGFRs لها دور في تولد الورم وتطوره (Wesche وآخرون,2011) ويعزز فرط التعبير عن bFGF من قابلية الاورام السرطانية في الانتشار، لذلك يرتفع مستوى bFGF في الاورام الخبيثة كما في سرطان البروستات Prostat cancer (Girie وآخرون,1999)، سرطان الغدة الدرقية Tyroid cancer(Pasieka واخرون,2003) وفي سرطان الرئة الخلايا الحرشفية Squamous cell carcinoma (Behrens وآخرون,2008) لقد ظهر ان مستوى bFGF يرتفع في النساء شخصت اصابتهن بسرطان المبيض مقارنة باخريات مصابات بالاورام الحدية والنساء ذات المبايض السليمة لذلك يعد bFGF علامة حيوية Biomarker للتنبؤ بظهور الورم من خلال علاقته بتولد الاوعية الدموية (Madsen وآخرون,2012).



شكل رقم (2) توضح الية الافراز الذاتي Autocrine والافراز المحيطي Paracrin في البيئة المحيطة بالورم (Akl وآخرون,2016)



شكل رقم (3) يوضح عملية نقل الاشارة عبر الغشاء البلازمي (Ornitz وItoh,2015)

5.2 المستضد السرطاني Cancer antigen125(CA125) :

يعرف المستضد السرطاني CA-125 ايضاً بـ المخاط Mucin16 (MCU16) وهو بروتين سكري Glycoprotein وينتمي الى مجموعة كبيرة تضم عدداً من انواع المخاط ويعبر عنه بواسطة الجين *Mucin16* (Yinو Lioyd,2001;Duraisamy وآخرون, 2006 ; Bottoni و Scatena,2015)، ويتصف بوزنه الجزيئي العالي وينتج غالباً في الخلايا الظهارية Epithelial Cell (Babic وآخرون,2017) لقد شاع استخدام CA-125 بوصفه احد معلمات السرطان اذ يرتفع مستواه في المصل في كثيراً من الاورام الخبيثة Malignant tumor ، كما في حالات سرطان الرئة Lung Cancer الثدي .Breast C، القولون Colon .C البنكرياس.Pancreas C وسرطان المبيض (OC)، (Bast وآخرون,1983). الا ان مستوى CA125 يرتفع في حالات اخرى لا علاقة لها بالسرطان قد تكون طبيعية كما هو الحال

عند نزول الطمث Mesntruation او قد تكون مرضية كما في حالة الانتباذ البطاني الرحمي Eectopic endometriosis التهاب الحوض Pelvic inflammation، امراض الكبد Liver disease، فضلاً عن ذلك لوحظ ارتفاع مستوى CA-125 لدى النساء شخصت لديهن تجمع للسوائل في التجويف البطني (الاستسقاء) Ascites (2002,Sturgeon)، وفي فترة الحمل عند ظهور الاكياس المبيضية Ovarian Cyst وفي حالة التهاب الزائدة الدودية (الاعورية) Appendicitis (Meany وآخرون,2009). يبدو ان مستوى CA-125 يتأثر بعوامل عديدة منها العمر, كثرة الانجاب فضلاً عن استخدام حبوب منع الحمل(Babic واخرون, 2017) ولقد كشفت الدراسات التي اهتمت بقياس مستوى CA-125 لدى المصابات بسرطان المبيض ان مستوى المستضد يكون مرتفعاً في المراحل المتقدمة من OC في حوالي 90% من الحالات فيما يظهر مستواه منخفضاً في حوالي 20–50% من حالات OC في مراحله المبكرة (Bast وآخرون,2005 ;Badgwell وBast,2007; Habib وآخرون,2015)

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الثالث

3- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1جمع العينات Collection of Samples

تم الحصول على 110 عينة من الدم لأجراء الدراسة الحالية من مركز الاورام-مستشفى بغداد التعليمي/دائرة مدينة الطب في الفترة مابين تشرين الاول 2018-ايار 2019.وصنفت العينات الى مجاميع وعلى النحو الاتي:.

1-المجموعة الاولى: تضمنت 39 عينة دم لنساء شخصت اصابتهن بسرطان المبيض .

2_المجموعة الثانية :.تضمنت 15 عينة دم لنساء مصابات بسرطان المبيض بعد العملية الجراحية واستعمال العلاج الكيميائي.

3_المجموعة الثالثة:. تضمنت 16عينة دم لنساء شخصت لديهن اكياس مبيضة Ovarian Cysts.

4-المجموعة الرابعة او مجموعة السيطرة:. تضمنت 40عينة دم لنساء اصحاء ظاهريا.

بغية اجراء الدراسة الكيميائية النسجية المناعيةImmunohistochemistry في الدراسة الحالية فقد تم الحصول على المقاطع النسجية (40 عينة) من اورام المبيض والاكياس المبيضية من مختبرات النسيج المرضي مختبرات التعليمية/دائرة مدينة الطب خلال الفترة المذكورة في اعلاه.

تم سحب 2-3 مل من الدم الوريدي Venous blood وباستخدام محاقن طبية معقمة Syringe, بعدها تركت لمدة 20-30 دقيقة في انابيب اختبار حاوية على جل وبدرجة حرارة المختبر. ثم وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي Centerifuge لمدة 5 دقائق وبسرعة

4000دورة/دقيقة لضمان فصل المصل كليا. واخيرا وزعت عينات المصل المعزولة بأستخدام الطرد المركزي في انابيب صغيرة Eppendrof بحيث اشغلت كل انبوبة على 500µL وتم تجميدها بدرجة حرارة−35 م° لحين استعمالها مع مراعاة استخدام كل قسم من المصل المعزول مرة واحدة لتجنب تكرار ذوبان وتجميد العينة.

3− 2المواد وطرائق العمل Materials and Methods :-

استخدمت في الدراسة الحالية بعض الاجهزة ,الادوات والمواد والتي تم الحصول عليها من مختلف الشركات والمناشئ ويمكن تلخيصها على النحو التالي:

1. المعدات Equipment

الجدول 3−1: الاجهزة المختبرية المستخدمة في الدراسة.

No.	Equipment	Company and Origin
1	Centrifuge جهاز الطرد المركزي	Germany, SIGMA
2	Deep freezer-35˚c مجمدة	Italia, ALS
3	ELISA washer and reader جهاز الغسل والقراءة	Germany, Human
4	Light Microscope مجهر ضوئي	Austria, Micro
5	MCX 100 LCD Camera كاميرا تصوير	Austria , Micro
6	Oven فرن حراري	Germany, Memert
7	Rotary Microtome مشراح اليدوي	Germany, MEDite
8	Shaker incubator حاضنة الهزازة	China, Jrad
9	Timer مؤقت	Germany, Digsystem
10	Vortex for tubes	Germany, Digsystem
11	Water Bath حمام مائي	Germany, Memert

2.الادوات Tools

الجدول 3−2: الادوات المستخدمة في الدراسة.

No.	Tools	Company And Origin
1	Positive Charg Slides شرائح زجاجية موجبة الشحنة	U.S.A, Pathnsilu
2	Cover Slides غطاء الشرائح الزجاجية	U.S.A, Biooftica

3	Cold Rack Box	U.S.A, Biobasic
4	Eppendrof Tubes انابيب ابندروف	Germany, Grenier
5	Humidity Chamber	U.S.A, Pathnsitu
6	Micro Pipette	Corea, Bioneer
7	Multi Channel Pipette ماصة متعددة القنوات	China, Huawei
8	Pap Pan	U.S.A, Biooptica
9	Pipette Tips	Turkey, Truline
10	Rack Tube حامل الانابيب	Germany, Simed
11	Slids شرائح زجاجية	U.S.A, Biooptica
12	Test Tubes (Gel) انابيب اختبار	Germany, Labcco
13	Tourniquet	Syria, Medical Lect
14	Plastic disposable syringes	China,Meheco

2. **العدد التشخيصية The diagnostic kits**

الجدول 3-3: العدد التشخيصية المستخدمة في الدراسة.

No.	Diagnostic Kits	Compny And Origin
1	Anti bfgf- Antibody	U.S.A, Abcam
2	Detection Kit	U.S.A, Pathnsitu
3	Human ELISA Kit (bFGF)	U.S.A, Abcam
4	Human ELISA Kit (CA125)	U.S.A, Calbiotech

4-المواد الكيمائية Chemical Materials

الجدول 3-4: المواد الكيمائية المستخدمة في الدراسة.

No.	Chemical Materials	Company And Origin
1	Distrene-Plasticizer-Xylene (D.P.X)	Germany, Sakura
2	Ethanol	spain, Scharlab
3	Formaline	Italia, Biooptica
4	Haematoxylin	Italia, Biooptica
5	Paraffin Wax	Italia, Biooptica
6	Xylene	Italia, Biooptica

3.3 الموافقات الاخلاقية Ethical Approval : -

حصلت الموافقة الاخلاقية من جميع المشاركين في هذه الدراسة لغرض اخذ عينة دم منهم وحسب الاستمارة المرفقة في الملحقات .ملحق رقم(4).

4.3 الطرق المختبرية Laboratory Method :-

تم قياس مستوى bFGF في 110 عينة مصل باستخدام شطيرة الاضداد المناعية المرتبط بالانزيم (Sandwich ELISA) طبقا للتعليمات الواردة مع عدة الفحص والتي زودت من قبل شركة abcam .

1.4.3مبدأ الاختبار Test Principle: يعتمد اجراء الاختبار على عدد من الانزيمات المجهزة لاجراء الفحص المناعي Immuno assay، اذ تم اعتماد شطيرة الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم (Sandwich ELISA) لتقدير مستوى bFGF في المصل .

تضاف العينات الى الحفر pits التي تظهر في الصفيحة Microplat الخاصة والتي تجهز مع عدة الفحص المختارة من شركة abcam ,اذ تكون الحفر معلمة مسبقاً بالاجسام المضادة وحيدة النسيلة Monoclonal Antibody لـbFGF وبعدها تضاف الاجسام المضادة لbFGF والمعلمة بالبايوتين Biotinlated bFGF Antibodies ثم تحضن مع مادة Horse Radish Peroxidase, تؤدي الاضافات السابقة الى تكون المعقد المناعي، ثم تغسل الاطباق للتخلص من الانزيمات غير المرتبطة، واخيرا يأتي دور المادة الاساس B,A والتي ينجم عن اضافتها تغير لوني واضح في الحفر التي اضيفت اليها المحاليل السابقة من اللون الازرق الى اللون الاصفر وبعد احتساب الكثافة البصرية Optical density يتم تقدير مستوى bFGF في العينات المدروسة.

الجدول 3-5: العدة المستخدمة في قياس مستوى عامل bFGF.

Item	Quantity
FGF basic Microplate	96 Wells
20X Wash Buffer Concentrate	25 ml
Recombinant Human FGF Standard	2 Vials
Assay Diluent A	30 ml
5X Assay Diluent B	15 ml
Biotinylated anti-Human FGF basic	2 Vials
120X HRP- Streptavidin Concentrate	200ml
TMB one- step supstrate Reagent	12 ml
Stop Solution H2So4	8ml

2.4.3 تحضير الكواشف Reagent Preparation :-

تركت جميع المحاليل والكواشف المستخدمة في قياس مستوىbFGF في المصل لتصل الى درجة حرارة المختبر. ثم اعدت المحاليل طبقا لأرشادات الشركة المجهزة Abcam وعلى النحو الاتي:.

1. المحلول المخفف B: استخدم الماء المقطر distilled water لتخفيف المحلول B خمس اضعاف اذ تم سحب 10 ml من المحلول الى 50 ml ماء مقطر
2. محلول الدارئ Wash Buffer

تم تحضيره وكما يأتي:

1- 20 ml من المحلول الدارئ الاصلي.

2-380 ml من الماء المقطر ,تم مزج هذه المحاليل بلطف وبعد التأكد من خلوها من البلورات تركت المحاليل في درجة حرارة المختبر.

3. تحضير 1X Biotinylated bFGF detection antibody :

تم تخفيف Biotinylated bFGF detection antibody بأضافة 100 µL من ماء مقطر الى القنينة الحاوية على Biotinylated bFGF detection antibody تم تركيز محتوى قنينة Biotinylated bFGF detection antibody قبل فتحها وذلك باستخدام جهاز الطرد المركزي.

4. تحضير محلول HRP- Streptavidin تم تركيز المحلول الاصلي قبل فتحه بأستخدام جهاز الطرد المركزي، بعدها خفف المحلول الى 120 مرة ضعف باضافة محلول التخفيف B.

5. تحضير المحلول القياسي Standard Solution Preparation وكما يلي:

a. تم تحضير bFGF100 ng/ml بأضافة 400 µl من المحلول المخفف A الى القنينة.

b. مزج المحلول بلطف وبصورة بطيئة.

c. تم ترقيم الانابيب وبالتسلسل من 1-6.

d. تحضير محلول القياسي رقم (1) وكما يأتي

1. 100µl من bFGF

2 . 900 µl من محلول المخفف A او B ثم مزج المحلولين في اعلاه في الانبوبة رقم 1.

e. بواسطة الماصة تم نقل 300 µl من المحلول المخفف A او B الى الانبوبة رقم 2.

f. تم تحضير المحلول القياسي رقم 2 بنقل 200 µl من الانبوبة رقم 1 الى الانبوبة رقم 2 مع المزج بلطف.

g. تم تحضير المحلول القياسي رقم 3 بنقل 200 µl من الانبوبة رقم 2 الى الانبوبة رقم 3 مع الرج البسيط

h. المحلول المخفف 1X Assay diluent A او المحلول المخفف 1X Assay Diluent B يعامل معاملة محلول صفري قياسي Zero Standard solution.

4.3.3اضافة العينات Addition of Samples :-

وضعت جميع المحاليل والكواشف والعينات بدرجة حرارة المختبر قبل الاستخدام، ومن المستحسن ان تتم معايرة جميع الكواشف والعينات بشكل متكرر وينبغي ان تضاف كل الكواشف بصورة مباشرة الى مستوى السائل في الحفر مع تجنب ملامسة الماصة الدقيقة الجدار الداخلي للحفر.

1. اضيف 100 µl من النماذج القياسية والعينات الى الحفر المحضرة وتم تغطيتها بشريط لاصق وحضنت لمدة 125 دقيقة بدرجة حرارة المختبر مع التحريك بلطف
2. رفع غطاء الصفيحة بحذر في هذه المرحلة لازالة كل ماهو عالق على سطح الحفر، غسلت الحفر باضافة 300 µl من محلول الغسل وكررت عملية الغسل 4 مرات وتركت لمدة دقيقتان, لازالة قطرات السائل المتبقية نضرب الصفيحة على ورق نشاف، ازالة السائل في كل خطوة تعتبر ضرورية لضمان دقة الاختبار.
3. اضيف 100 µl من 1X Biotinylated FGF Basic Antibody الى كل حفرة وحضنت لمدة 60 دقيقة بدرجة حرارة المختبر مع تحريكها بلطف علما ان هذه الخطوة تم تكرارها.
4. اضيف 100 µl من HRP- Streptavidin الى كل حفرة وحضنت لمدة 45 دقيقة بدرجة حرارة المختبر مع تحريكها بلطف.
5. كررت عملية الغسل والازالة 4 مرات في الخطوة الثانية .
6. اضيف 100 µl من محلول المادة الاساس TMB الى كل حفرة وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة المختبر بالظلام مع تحريكها بلطف.
7. اضيف 50 µl من محلول توقف التفاعل الى كل حفرة.
8. تحديد الكثافة البصرية لكل حفرة فوراً على طول موجي 450 نانومتر (nm) باستخدام قارئ الاليزا ELISA Reader.

4.4.3 حساب النتائج Calculation of Results

تم رسم المنحنى القياسي على اساس متوسط الامتصاصية لكل من المحاليل القياسية على المحور السيني مقابل تركيزها على محور الصادي ورسم افضل خط مستقيم يمر خلال التقاط في المنحنى القياسي الخطي لقياس مستوى عامل نمو الارومة الليفية- القاعدي bFGF

المجهول لنماذج المرضى والسيطرة من خلال تسقيط الكثافة الضوئية (O.D) لكل نموذج على المحور الصادي وحساب مستوى bFGF.(ملحق رقم2)

5.3قياس مستوى المستضد السرطاني CA-125

الجدول 3-6: العدة المستخدمة في قياس مستوى CA-125.

Reagent	Quantity
Microwells coated streptavidin	1
CA -125 Reference Standared: 6 Vials (Read to use)	0.5ml
Enzyme Conjugate Reagent	12 ml
TMB Reagent (one – step)	12 ml
Stop Solution	12 ml
Wash Concentrate: 1 Bottle	25 ml

1.5.3. تحضير محلول الغسل Wash Buffer: حضر محلول الغسل 25ml من محلول الغسل القياسي وضع في اسطوانة نظيفة ومن ثم اضيف اليه 475 ml من الماء المقطر Distilled Water ليصل حجم الكمية الدارئ الى 500 ml.

2.5.3اضافة العينات Addition of Samples:

1. اضيف 50 µl من النماذج القياسية الجاهزة والعينات الى الحفر.
2. اضيف 100 µl من Enzym Conjugate Reagent الى كل حفرة وتغطى الصفيحة بشريط لاصق
3. تتم عملية الخلط بلطف ولمدة 30 ثانية حضنت بدرجة حرارة المختبر.
4. حضنت الصفيحة 60 دقيقة .
5. رفع غطاء اللاصق من الصفيحة وغسلت كل الحفر باضافة 300 µl من محلول الغسل ثلاث مرات ومن ثم سكب سائل الغسل بعدها تم قرع (ضرب) الصفيحة على ورق نشاف نظيف.

6. اضيف 100 µl من محلول مادة الاساس TMB الى كل حفرة بلطف لمدة 10 ثواني وحضنت بدرجة حرارة المختبر في الظلام لمدة 15 دقيقة.
7. اضيف محلول توقف التفاعل باضافة 50 µl الى جميع الحفر.
8. تحدد الكثافة البصرية في غضون 15 دقيقة وعلى طول موجي 450 nm.

3.5.3حساب النتائج Calculation of Results:

تم رسم المنحنى القياسي على اساس متوسط الامتصاصية لكل من المحاليل القياسية على المحور السيني مقابل تركيزها على المحور الصادي ورسم افضل منحنى يمر من خلال التقاط في المنحى القياسي، تم رسم المنحنى القياسي الخطي لقياس CA-125 المجهول لنماذج المرضى والسيطرة مباشرة من خلال تسليط الكثافة البصرية (O.D) (الضوئية) لكل نموذج على المحور الصادي واحتساب مستوى CA-125 من المحور السيني. ملحق رقم 3

6.3 الدراسة النسجية :

تمت هذه الدراسة وفقاً لطريقة Bancroft and Stevens (1996).

1. التثبيت والغسل Fiaxtion and Washing: استخدم محلول الفورمالين 10% Formalin Solution لتثبيت عينات الانسجة لمدة 48 ساعة، حيث تم تحضير محلول الفورمالين 10% طبقا لطريقة Bancroft و Stevens (1996) وكما يأتي:.

a- 10 ml محلول الفورمالين بتركيز 37-40%

b- 90 ml ماء مقطر غسلت العينات بعد انتهاء مدة التثبيت بالماء الجاري

2. الانكاز Dehydration: مررت العينات بعد ذلك بسلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%، 80%، 90%، 100%) وذلك لغرض سحب الماء من العينات ولمدة 60 دقيقة لكل تركيز.

3. الترويق Clearing: تم ترويق العينات بمادة Xylene ولمدة 20–30 دقيقة وذلك لجعل العينات اكثر شفافية.
4. الارتشاح والاسجاء (الطمر) Infiltration and Embedding: وضعت العينات بعد عملية ترويقها في شمع البارافين المنصهر بدرجة 56–58 م° حيث تشريب العينات بالشمع على ثلاث مراحل ولمدة ساعة واحدة لكل مرحلة واخيرا وضعت العينات في قوالب معدنية وطمرت بنوعية الشمع نفسها المستخدمة في الترشيح.
5. التشذيب والتقطيع Trimming and Sectioning: القوالب الشمعية التي تحتوي النماذج النسيجية تم تشذيبها بواسطة مشرط حاد وقطعت النماذج باستخدام جهاز المشراح اليدوي Manual Microtome بسمك 4 مايكروميتر ووضعت الشرائح المقطعة على شرائح زجاجية Slides.

1.6.3طريقة الدراسة الكيميائية النسجية المناعية(IHC)

اجريت طريقة العمل طبقا للتعليمات الواردة من قبل شركة Pathinsitu:

1. قطعت النماذج المطمورة بالشمع باستخدام جهاز Rotary Microtome المشراح اليدوي وعلى سمك 4 مايكرون ثم تم تحميلها على شرائح زجاجية موجبة الشحنة Positive Charge Slid.
2. وضعت الشرائح الزجاجية داخل الفرن الكهربائي Oven بدرجة حرارة 65 م° ولمدة 30 دقيقة.
3. وضعت في الزايلين Xylene ولمدة 5 دقائق وعلى مرحلتين لغرض ازالة الشمع.

4. مررت الشرائح الزجاجية بسلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي تبدأ من (100%–90%–80%–70%) ومن ثم الى الماء المقطر لمدة 5 دقائق، وذلك لغرض ادخال الماء الى النسيج.

5. وضعت الشرائح الزجاجية في الماء في مادة pH.9 Tris /EDTA بدرجة حرارة 99 م° لمدة 40 دقيقة.

6. تركت الشرائح الزجاجية داخل المحلول ليبرد ثم نقلت الى الماء المقطر.

7. يحدد حول المقطع النسيجي بواسطة قلم Pap pen و تغسل الشرائح الزجاجية بـ pH 7.2 Wash buffer.

8. اضيف Preroxidase Block لمدة 10 دقائق لغرض حجب جميع Non Specific Ag.

9. تغسل الشرائح الزجاجية Wash Buffer لمدة 5 دقائق .

10. اضيف Anti FGF2 Antibody بعد تخفيفه لمدة 60 دقيقة.

11. غسلت الشرائح الزجاجية Wash Buffer لمدة 10 دقائق.

12. اضيف Polyexel Binder لمدة 10 دقائق.

13. غسلت الشرائح الزجاجية Wash Buffer لمدة 10 دقائق.

14. اضيف Poly HRP لمدة 10 دقائق.

15. غسلت الشرائح الزجاجية Wash Buffer لمدة 10 دقائق.

16. اضيف Stunn DAB(3,3diaminobenzidine) لمدة 5 دقائق.

17. غسلت الشرائح الزجاجية Wash Buffer لمدة 10 دقائق.

18. اضيفت صبغة الهيماتوكسلين لمدة 10 دقائق.

19.غسلت الشرائح الزجاجية Wash Buffer لمدة 5 دقائق.

20.تجفف الشرائح الزجاجية بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%-90%-100%) بكل تركيز 5 دقائق.

10. تغمر الشرائح الزجاجية بمادة الزايلين لمدة 5 دقائق.

11. وضعت مادة اللاصقة D.P.X(Disteren-plasticizer-xylene) على المقطع النسجي ويغطى بعدها بالـ Cover Slide.

2.6.3الفحص Examination: فحصت الشرائح الناتجة بالمجهر الضوئي Light Microscope بقوة تكبير 40X الذي من خلاله تم ملاحظة التغيرات المرضية على الانسجة المصابة، بعدها صورت الشرائح الزجاجية باستخدام كاميرا MCX100 LCD المثبتة على المجهر الضوئي.

7.3 التحليل الاحصائي Statistical analysis: اجري التحليل الاحصائي باستخدام برنامج الحزمة الاحصائية للعلوم الاجتماعية (statistical package for social sciences) ذي الاصدار رقم 22,تم وصف المتغيرات ذات الصيغة الوصفية بصيغة العدد والنسبة المئوية وتمت المقارنة باستخدام اختبار مربع كاي (X^2) Chi-square. أيضا ، تم قياس حساسية وخصوصية الاختبارات التشخيصية (الكشف عن أفضل اختبار للتشخيص) تم وصف البيانات الرقمية من خلال (Mean± SD and S. E.). تم استخدام اختبار T للمقارنة بين متغيرين رقميين أو أكثر. اختبار LSD اقل فرق معنوي للمقارنة بين المتغيرات. تم حساب ارتباط بيرسون (ص) لتوضيح نوع وقوة العلاقة بين المتغيرات. تم تطبيق عند مستوى معنوي 0.05= p للاختبار.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

الفصل الرابع

4. النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.4 توزيع الفئات العمرية في مجموعة المرضى :.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الفئة العمرية الاكثر اصابة هي الفئة 55≤ عاما بنسبة 40,7% واقل فئة عمرية مصابة ما بين 25-34 عاما بنسبة 1,9%,وهذه نتائج تتفق مع دراسة Yancik (1993) 48 % من حالات OC يصيب الفئة العمرية 65عاما ويزداد معدل الاصابة بـ OC مع تقدم العمر ,ودراسة اخرى بينت ان OC يصيب النساء بعد 50 عاما وبنسبة 64% (Hussein و Salai,2019),ان التقدم بالعمر يؤدي الى ارتفاع احتمالية الاصابة بالأورام الخبيثة (prat,2012), يرتبط OC بالتقدم بالعمر ويعد بشكل رئيس من الامراض ما بعد انقطاع الطمث أذ يلاحظ ارتفاع في حدوث الاصابة به فوق سن 65 عاما (Momenimovahed وآخرون,2019). ان المرض يزداد في عمر35 عاما ويبلغ ذروته بين النساء اللاتي تتراوح اعمارهن ما بين 55-64عاما ويصيبOCجميع الفئات العمرية من النساء(Wentzenesenوآخرون,2016) ,اظهرت نتائج الجدول 4- 1 ان مؤشر العمر اعطى ارتفاعا عاليا ومعنويا في هذه الفئة العمرية وان هذه النتائج تتفق مع دراسة Roett وEven (2009) ودراسة اخرى كشفت عن 75% من حالات سرطان المبيض شخصت لدى النساء اللواتي تزيد اعمارهن عن 55 عاما(Sundar وآخرون,2015), ويعود سبب ذلك الى ان النساء عندما تتقدم بالعمر تعاني العديد من الاضطرابات الهرمونية فضلا عن عملية الاباضةOvulation وبالتالي يؤدي الى زيادة خطر الاصابة بسرطان المبيض(Brinton وآخرون,2005) اذ تنص نظرية الاباضة المستمرة دون انقطاع الى تطور OC فتسبب اتلاف (تحطم) بظهارة سطح المبيض، حيث اشارة الباحثون الى وجود علاقة بين زيادة خطر الاصابة

بسرطان المبيض واستخدام علاجات تحفز الاباضة مثل Clomiphene Citrate (Reigstad وآخرون,2017) ان استخدام العلاج الهرموني Hormone therapy (HT) عن طريق الفم مرتبط بزيادة مخاطر الاصابة OC (Mørch وآخرون,2009;Glud وآخرون,2004) اذ ان العلاج الهرموني سيعزز من تكاثر الخلايا الظهارية للمبيض وتحولها الى خلايا خبيثة وبالرغم من فوائد استخدام (HT) بشكل متزايد في البلدان المتقدمة لتخفيف اعراض الطمث في النساء الاصحاء الا انه عامل خطر لـ OC.

الجدول 4-1: مقارنة بين فئات العمرية في مجموعة المرضى فقط

Age	No.	Percentage %	Statistics
15-24	5	9.3%	$X^2=29$ df=4 $P=0.001^{***}$
25-34	11	1.9%	
35-44	8	14.8%	
45-54	18	33.3%	
≥55	22	40.7%	
Total	54	100%	

*** تشير الى وجود فرق معنوي عالي جدا

2.4 مقارنة مستوى العمر و bFGF وCA-125 بين مجاميع الدراسة:.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية الى ارتفاع مؤشر مستوى العمر لدى مجموعة النساء المصابات OC $50,63^{a}\pm2,03$ مقارنة مع مجموعة السيطرة $29,33^{b}\pm1,56$ وكان الارتفاع عاليا ومعنويا جدا ($P<0.001$) بينما كان متوسط العمر في الدراسة الحالية هو 50,63عاما

وهي الاقرب الى نتائج التي توصل اليها كل من Doufekas وOlaitan(2014) ان متوسط العمر عند التشخيص كان 63عاما في دراستهم التي اجريت في المملكة المتحدة.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية(الجدول 4-2) بالنسبة الىbFGF فرقا معنويا عاليا تحت مستوى احتمالية$P=0,001$ بين مجموعة النساء المصابات بسرطان المبيض $145,63^{a}$ ±5,09 وكل من مجموعة الاكياس الحميدة$86,44^{b}$ ±4,07 ومجموعة السيطرة 66.81^{b}±4,20 في حين لم يظهر فرق معنوي بين مجموعة النساء المصابات بالأكياس المبيضية ومجموعة السيطرة تحت نفس مستوى الاحتمالية وتتفق هذه النتائج مع دراسة Madsen وآخرون (2012) ان مستوى bFGF يرتفع في مصل النساء المصابات بسرطان المبيض مقارنة مع مجموعة السيطرة ويعود سبب ذلك الى انتاجه من قبل خلايا سرطان المبيض فمن الممكن ان يكون هذا المؤشر كعلامة مفيدة ايضا في متابعة تطور المرض والاستجابة للعلاج (Le-pag وآخرون,2006),اظهرت النتائج ايضا ارتفاع مؤشر CA125 ارتفاعا معنويا عاليا في مجموعة النساء المصابات بسرطان المبيض $68,01^{a}$ ±2,60 مقارنة مع مجموعة السيطرة 17.65±4.28وهذه النتائج تتفق ايضا مع دراسة (Le-pag وآخرون,2006)ونلاحظ ايضا فرق معنوي بين مجموعة السيطرة ومجموعة الاكياس المبيضية $57,08^{a}$±6,89 ان ما يفسر ارتفاع هذا المؤشر هو لمراقبة العلاج الكيميائي للنساء المصابات بسرطان المبيض(Gupta وLis,2009).

الجدول 4-2: مقارنة متوسط مستوى العمر والمؤشرات الحيوية بين المجموعات قيد الدراسة.

Parameter		No.	Mean	S. E.	Statistics
Age	Control	40	29.33^{b}	1.56	F=38.22
	Ovariancycts	16	30.31^{b}	2.23	df=2
	Malignant	54	50.63^{a}	2.03	$P=0.001^{***}$
bFGF pg/ml	Control	40	66.81^{b}	4.20	F=76.11
	Ovarian cysts	16	86.44^{b}	4.07	df=2
	Malignant	54	145.63^{a}	5.09	$P=0.001^{***}$
CA125 U/ml	Control	40	17.65^{b}	0.68	F=101.11
	Ovarian cysts	16	57.08^{a}	6.89	df=2
	Malignant	54	68.01^{a}	2.60	$P=0.001^{***}$

*** تشير الى وجود فرق معنوي عالي جدا / a,b تشير الى الفرق بين المجموعات

3.4 مقارنة مستوى المؤشرات الحيوية في الدراسة بين مجموعة المرضى

عند مقارنة مستوى المؤشرات الحيوية قيد الدراسة مع الفئات العمرية لمجموعة المرضى اظهر المؤشر bFGF اعلى مستوى له في الفئة العمرية 45-54 عاما وكان 150.37±8.37 هذا الارتفاع معنويا عاليا مقارنة مع الفئات العمرية الاخرى في مجموعة المرضى ($P<0.05$) بينت دراسة Student وآخرون (2018) لا يوجد فرق ما بين مستويات bFGF والعمر الا ان مستوياته كانت مرتفعة في مصل مرضى سرطان المبيض مقارنة مع مجموعة الاكياس المبيضية ومجموعة السيطرة وايضا مستواه كان مرتفعا قبل العلاج الكيميائي. اظهرت الدراسات الى ان الخلايا السرطانية لها القدرة على افراز عوامل النمو ومستقبلاته من خلال آلية الافراز الذاتي وبالتالي سوف تحافظ الخلايا على انتشارها بشكل طبيعي (Di Blasio وآخرون,1995)

بينما اظهر مؤشر CA-125 اعلى مستوى له في الفئة العمرية ≥55 عاما وكان 71.59±3.80وبدون وجود فرق معنوي في مستواه في هذه الفئة مقارنة مع الفئات العمرية الاخرى وهذا يتفق مع دراسة Johnson وآخرون (2008) فأن مستويات CA−125 تكون مرتفعة مع التقدم بالعمر بالرغم من ان CA-125 عامل للتنبؤ الا ان هنالك علاقة عكسية بين مستوياته ونسبة البقاء لمريضات سرطان المبيض حيث تشير المستويات المنخفضة الى الاستجابة الايجابية للعلاج والبقاء على قيد الحياة بينما المستويات المرتفعة تشير الى عودة الورم وبالتالي تكون فرصة البقاء على قيد الحياة طويلا ضعيفة (Gupta وLis,2009).

الجدول4−3 مقارنة مستوى المؤشرات الحيوية bFGF و CA-125 مع الفئات العمرية في مجموعة المرضى

Prameter	Age groups	NO.	Mean	Std.Error	Statistics
bFGF pg/ml	15-24	8	118.88[b]	15.27	F=3.56 df=4 P=0.01**
	25-34	11	97.00[b]	7.97	
	35-44	10	135.60[a]	15.80	
	45-54	19	150.37[a]	8.73	
	≥55	22	136.50[a]	8.13	
CA-125 U/ml	15-24	8	62.43[a]	7.97	F=0.78 df=4 P=0.54
	25-34	11	65.12[a]	8.57	
	35-44	10	65.69[a]	7.83	
	45-54	19	59.92[a]	4.51	
	≥55	22	71.59[a]	3.80	

**تشير الى وجود فرق معنوي عالي. a,b تشير الى وجود فرق بين المجموعات.

4.4 انواع سرطان المبيض:.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية (الجدول 4-4)ان نوع سرطان خلايا السطح الظهارية (SECs) ابدى اعلى نسبة مئوية من بين الانواع الاخرى وبنسبة 87.00% وهذه النتائج تتفق مع دراسة Momenimovahed وآخرون(2019) حيث ذكر ان(SECs) شكلت نسبة 95% من بين الانواع الاخرى OC, اما بالنسبة لأنواعه فقد شكّل النوع Serous نسبة 44.4% ويعد هذا النوع هو اكثر الانواع شيوعا بسبب سرعة انتشاره و امكانياته الخبيثة هي الاعلى(Doufekas و Olaitan, 2014).

ظهر النوع Mucinous بنسبة 14.80وهذه نتائج تتفق مع نتائج Jumaa (2013) اما النوع Endometriod بنسبة 11.10% اتفق مع Momenimovahed وآخرون (2019) والنوع clear cell شكل نسبة حوالي 3.70% وايضا النوع Transitional cell بنسبة 3.70%,اما Adenocarcinoma شكل نسبة 9.30% ، وان هذه النتائج تتفق مع نتائج دراسة(2013,Jumaa) ،ويعود سبب ذلك ان اورام خلايا سطح الظهارية تكون من نوع المقاوم للعلاج الكيميائي Chemoresistance وهذا ما ذكره MDijkgraafd وآخرون (2012) بالاضافة الى كون هذه الاورام تظهر لدى النساء المتقدمات بالعمر كما بينها (Ozols واخرون,2004) . اظهرت النتائج ايضا ان النوع Sex cord-stromal بنسبة شكلت حوالي 7.30%, وشكل النوع Granulosa في هذه الدراسة نسبة 7.30% وهذه النتائج تتفق مع نتائج الدراسات السابقة (2018,Gaaib;2013,Jumaa).اما بالنسبة للنوع Germ cell شكل نسبة 5.70% وهو النوع الاقل شيوعا، حيث ظهر النوع Choriocarcinoma بنسبة 1.90% وهو من الاورام النادرة ويظهر في المراحل المبكرة من العمر كما ذكره(Hayashiواخرون,2015) ، النوع Dysgerminom بنسبة 1.90% يظهر هذا النوع

في الاعمار مابين 20– 30 عاما كما ذكره (Deka وآخرون,2016) ويليه النوع Yolk sac tumor بنسبة 1.90% ايضا، وهذه النتائج توافقت مع نتائج كل من Gabbi (2018) Hussein و Salai(2019) وكان الفرق عاليا جدا ومعنويا بين الانواع P=0.001.

الجدول4–4: توزيع الانواع الرئيسية والفرعية لسرطان المبيض في مجموعة المرضى .

Tumor type		No.	Percent%	Statistic
Surface epithelial tumor		42	87.00%	X^2=81 df=9 P=0.001***
	Serous	24	44.40%	
	Endometriod	6	11.10%	
	Mucinous	8	14.8%	
	Clear cell	2	3.70%	
	Adenoarcinoma	5	9.30%	
	Transitional cell	2	3.70%	
Sex cord-stromal tumor		4	7.30%	
	Granuolosa	4	7.30%	
Germ cell tumor		3	5.70%	
	Choriocarcinoma	1	1.90%	
	Dysgerminoma	1	1.90%	
	Yolk sac tumor	1	1.90%	

*** وجود فرق معنوي عالي جدا.

5.4 مراحل سرطان المبيض :.

تم تقسيم مجموعة النساء المصابات OC اعتمادا على مرحلة الورم كما هو مبين بالجدول 4–5 كان عدد النساء المصابات OC في المرحلة الاولى عددهن 12 وبنسبة 22.20%,في المرحلة الثانية عددهن 12 وبنسبة 22.20% ,في المرحلة الثالثة عددهن 9 وبنسبة 16.70% ,اما المرحلة الرابعة كان عددهن 18 وحصلت على اعلى نسبة بحدود 33.30% اما بالنسبة للنساء كان لديهن المرض منتشرا عددهن3 وهن اقل نسبة 5.60% وكان فرق معنوي بين المجاميع P=0.02. تبين من خلال نتائج الدراسة الحالية(جدول 4–5) ان المرحلة الرابعة OC حصلت على اعلى نسبة مئوية

وشكلت حوالي 33.30% مقارنة مع المراحل الاخرى وكان الاختلاف معنويا($P<0.05$) وهذه النتائج تتفق مع دراسة Jumaa (2013) بينما دراسة اخرى افادت بأن 74% من النساء المصاباتOC شخص المرض لديهن بالمرحلة الثالثة والرابعة (Maringe وآخرون,2012) بينما افادت دراسةColombo وآخرون (2006)، ان حوالي 75% من النساء شخصت في المرحلة الرابعة من المرض وذلك لأن OC في مرحلته الاولى يظهر بدون اعراض و ايضا يعزى سبب ذلك الى موقع المبيض و أضافة الى اعراض المرض تكون مخفية(غامضة) وتختلط مع اعراض امراض اخرى وخاصة امراض الجهاز الهضمي حيث ان 70% من حالات سرطان المبيض تشخص في مراحل متقدمة (2014,Vargas) وكذلك بسبب عدم وجود وسيلة فعالة للكشف المبكر عن المرض (Gubbels وآخرون,2010 ;Vargas, 2014).

الجدول 4-5 توزيع مجموعة المرضى اعتمادا على مرحلة الورم

Tumor stage	NO.	%	Statistic
Stage I	12	%22.20	P=0.02*
Stage II	12	%22.20	
Stage III	9	%16.70	
Stage IV	18	%33.30	
Metastasis	3	%5.60	

*تشير الى وجود فرق معنوي

6.4 معامل الارتباط بين المؤشرات الحيوية للدراسة :.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية(الجدول4-6) العلاقة الترابطية بين المؤشرين قيد الدراسة حيث بينت النتائج وجود علاقة معنوية عالية بين المؤشرين (R=0.244) اذ ارتبط مؤشر bFGF مع المؤشر CA125 ارتباطا طرديا ويعزى سبب ذلك ان كلا المؤشرين يرتفعان مع مرض OC وهذه نتائج تتفق مع نتائج دراسة (Madson وآخرون,2012), في حين افادت دراسة اخرى الى عدم وجود علاقة ترابطية بين مستويات المؤشرين في المصل قبل العلاج الكيميائي(Student وآخرون,2018) وحيث ان bFGF يرتفع في مصل مريضات OC بسبب دوره المهم في عملية Angiogenesis أذ يحفز(يحث) على حركة وتكاثر الخلايا البطانية(EC) فيعد هذا العامل اساس هذه العملية (Kumer وآخرون,2007),فضلا عن الاليه التي يعمل بها bFGF وهي الية الافراز الذاتي Autocrine والية الافراز المحيطيParacrine أذ ان الخلايا هي التي تقوم بأفراز bFGF (Kumer وآخرون,2007), عند مقارنة الدراسة الحالية مع دراسة اخرى على Vascular endothelial growth factor (VEGF) فأن هذا العامل يرتفع ايضا في مصل مريضات OC بسبب دورهما المهم في عملية Angiogenesis حيث يعتبران عوامل مؤيدة للتكون الوعائي(Jumaa,2013) يرتفع bFGF في انواع اخرى من السرطان غير OC مثل سرطان الغدة الدرقية Thyroid cancer(Pasieka وآخرون,2003).

الجدول (4-6): مقارنة بين المؤشرين bFGF و CA125.

Parameter		Bfgf	CA125
bFGF pg/ml	R	1	0.244*
	P		0.042
CA125 U/ml	R	0.244*	1
	P	0.042	

*تشير الى وجود فرق معنوي.

7.4 اختبار الحساسية والخصوصية للمؤشرات الحيوية في مجموعة المرضى

تم حساب حساسية وخصوصية كل من المؤشرين bFGF و CA125 في مجموعة المرضى والاصحاء وقد جاءت النتائج كما هو موضح في جدول 4-7 حيث ان حساسية المؤشر bFGF للمرض عالية جدا بنسبة 98% تقابلها خصوصية81% بينما حصل المؤشر CA125 على حساسية بنسبة 61% وبخصوصية بلغت 37% وكان الاختلاف بين الحساسية والخصوصية بين المؤشرين معنويا ($P<0.05$) وهذه النتائج تتفق مع ما جاء به Le-page واخرون (2006), bFGF اعلى خصوصية من CA125 في الكشف عن OC وهذا يبين ان bFGF هو عامل مهم للتنبؤ بالإصابة بسرطان المبيض كونه يساهم في الخطوة الاولى لنشوء الخلية السرطانية من خلال دوره في عملية Angiogenesis والتي تعد اهم خطوة في نشوء السرطان (Madsen وآخرون,2012). CA125 يكون واطئ(منخفض) الحساسية في الكشف عن المراحل المبكرة لOC بسبب ارتفاع مستوياته في الحالات الطبيعية كالحيض والتهاب بطانة الرحم Endometriosis (Dochez وآخرون,2019) الامر الذي يجعله غير حساس وكذلك غير فعال في الكشف المبكر عن OC (Bast وآخرون,2005) .

وقد اكدت الدراسات السابقة بالرغم من كثرة الفوائد المصاحبة لاستخدام CA125 هناك ايضا معوقات تجعله غير فعال في الكشف المبكر عن المرض بسبب ضعف حساسيته (Helzlsouer وآخرون,1993) .كذلك يستخدم CA125 خلال العلاج الكيميائي لدى المرضى لتقيم الاستجابة للعلاج كونه واطئ الحساسية (Duffy وآخرون,2005)، لذلك لا ينصح بأستخدام CA125 بمفرده الا بعد ربطه بمعلم سرطاني اخر مثل Osteopontin (Mohammed وآخرون,2018).

الجدول (4-7): حساب الحساسية والخصوصية للمؤشرات الحيوية CA125, bFGF باستخدام منحنى ROC

Parameter	Sensitivity%	Specificity%	Cut off	AUC	P value
bFGF pg/ml	%98	%81	≥60	0.938	0.028*
CA125 U/ml	%61	%37	≥35	0.657	0.102

8.4 حساب مستوى bFGF بين مجاميع الدراسة:.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية (الجدول 4-8) ان هناك فروقات بمستويات تركيز bFGF بين مجاميع الدراسة وكانت هذه الفروق عالية ومعنوية جدا ($P<0.05$)، اذ كانت مستوياته في مجموعة السيطرة $66,81^{c}\pm4,20$,مجموعة الاكياس المبيضية $86,44^{a}\pm4,07$ كانت بينهما فروق مقارنة مع مجموعة الاورام الخبيثة حيث كانت $145,20^{a}\pm5,09$ والتي لم تظهر فرق بينها وبين مجموعة الاورام الخبيثة بعد العلاج الكيميائي $142,00^{a}\pm9,06$,ولكن كان هناك فروقات بين هذه المجموعة ومجموعة السيطرة ومجموعة الاكياس المبيضية وهذه نتائج تبرهن على ان مستوى عامل النمو الارومة الليفية_ القاعدي ينخفض بعد العلاج الكيميائي تبين من خلال النتائج ايضا وجود فروقات بين المجاميع الاربعة، اذ كانت مستويات bFGF مرتفعة في مصل النساء المصابات بـ OC مقارنة مع مجموعة الاكياس المبيضية وهذه النتائج يتفق مع نتائج (Szubert وآخرون,2016) في حين يلاحظ انخفاض مستوى bFGF بعد العلاج الكيميائي, ذكر Šudent وآخرون(2018) ان مستوى bFGF في مصل النساء المصابات OC كان

مرتفعا قبل العلاج الكيميائي حيث كانت مستويات bFGF في المرضى قبل العلاج الكيميائي مرتفعة مقارنة مع المرضى الذين يظهرون استجابة للعلاج الكيميائي (Dirix وآخرون,1997) وليس فقط في مريضاتOC حيث ينخفض مستوىbFGF في مصل مرضى ال Multiple Myeloma (Sezer وآخرون,2001) الا ان هذا الانخفاض ليس بالشديد لكون المريضات خضعن لجرع قليلة تراوحت ما بين 1-3 جرعة وبالرغم من ان bFGF يحفز عملية Angiogenesis وهذا سوف يؤثر على تكاثر ,هجرة وديمومة الخلايا السرطانية(Hu وآخرون,2016)، الا ان استهداف هذه العملية من خلال غلق مستقبلات FGFR سوف يؤدي الى ايقاف الامتداد الدموي لتغذية الخلية السرطانية وبالتالي موتها فتعتبر هذه المستقبلات اهداف مهمة لعلاج انواع السرطان المختلفة(Dai وآخرون,2019) . تقترح الدراسات السابقة ان غلق مواقع ارتباط المستقبل مع جسم مضاد وحيد النسيلة ضد-المستقبل monoclonal anti receptor antibody(mAb) قد يكون علاج فعال للسرطان(Mendelsohn,2001)

الجدول4-8: مقارنة مستوى bFGF بين مجاميع الدراسة.

Groups	No.	Mean	S.Error	Statistics
Control	40	66.81^{c}	4.20	F=55
Ovarian cysts	16	86.44^{b}	4.07	df=3
Malignant	54	145.20^{a}	5.09	$P=0.001^{***}$
After chemotherapy	15	142.00^{a}	9.06	

***تشير الى وجود فرق معنوي عالي جدا.

9.4 الدراسة الكيميائية النسجية المناعية Immunohistochemistry

تم تقييم المقاطع المتسلسلة من أورام المبيض الحميدة والخبيثة بواسطة تقنية الكيمياء النسجية المناعية لbFGF ، اذ تم التأكد من وجود او غياب bFGF في كلا المجموعتين من

خلال مقارنة مستوى bFGF في مجموعة مكونة من (4) انواع من الاكياس المبيضية و(36) نوع من سرطان المبيض مع استخدام نسج البروستات للمقارنة وكما يلي:

1_اورام خلايا السطح الظهارية ويتضمن الانواع التالية :.

- سرطان المبيض المصلي serous ovarian cancer : تم الحصول على (12)حالة من الفحص النسجي.
- الورم المخاطي Mucinous tumor: وضم هذا النوع (7) حالات
- سرطان شبيه بطانة الرحم Endometriod tumor :ضم هذا النوع(3) حالات
- سرطان الخلية الرائقة Clear cell carcinoma :اما هذا نوع ضم حالة واحدة
- اما نوع Adenocarcinoma: تم الحصول على (5) حالات

2_اورام السدى_ الحبل الجنسي يتضمن النوعين وهما

- اورام الخلايا الحبيبية Granulosa cell tumor :ضم هذا النوع (5)حالات .
- اورام خلايا سرتولي Sertoli cell tumors:اما هذا النوع ضم حالة واحدة فقط

3_اورام الخلايا الانتاشية ويتضمن نوع واحد وهو ورم الكيس المحي Yolk sac tumor والذي بدوره ضم حالتين فقط .

9.4.1 نقاط التصبيغ المناعي scoring of immunostaining:

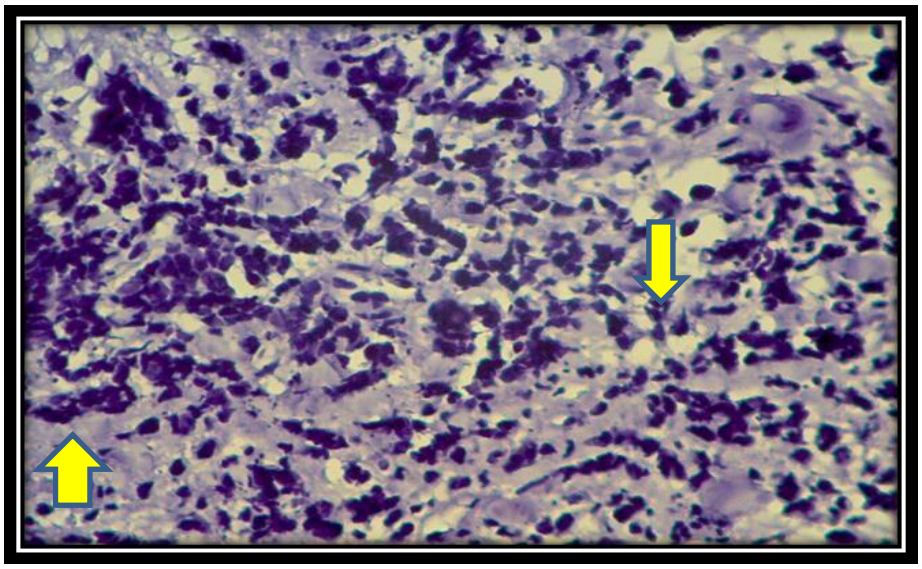
تم تحديد التعبير الايجابي لbFGF في نسج الاورام الخبيثة من خلال وجود حبيبات صفراء–بنية في سايتوبلازم الخلية السرطانية حيث يتم حساب ذلك كالتالي 0(10%>) خلية السرطانية ابدت تعبيرا ايجابيا ,1(10-24%),2(25-49%),3(50-75%),4(75%<), اما شدة التصبيغ المناعي تحسب كالتالي: 0(عدم وجود تفاعل مناعي),1(شدة ضعيفة+),2(شدة

متوسطة++),3(شدة قوية+++) (Liuو Xing,2017). اظهرت نتائج دراسة سابقة ان معدل التعبير كان ايجابيا لـ bFGF وان حوالي 57% من العينات ابدت تعبيرا موجبا عنه وبالتالي سوف يؤدي دورا مهما في احداث التسرطن Carcinogenesis وانتشاره في النساء المصابات بـ OC(Zhao وآخرون,2005). يعد غزو وانتشار الورم الخبيث من الخصائص الاساسية للاورام الخبيثة وكذلك من الاسباب الرئيسة في ارتفاع نسبة الوفيات المرتبطة بالسرطان (Songوآخرون,2000) لذلك فان bFGF قادر على تعزيز غزو الورم الخبيث وانتشاره من خلال افرازه عدد من الانزيمات المحللة للبروتينات وكذلك انزيمات محللة للكولاجين collagenase (Song وآخرون,2000) لذلك كان الهدف من العلاجات ضد الورم هو لتثبيط تكاثر الخلايا الظهارية الوعائية Vascular endothelial cell(VEC) وانتشارها الخبيث الى العقد الليمفاوية(Amino وآخرون,2006). اظهرت نتائج دراسة اجريت على bFGF ان مستوى التعبير الايجابي ارتبط بنمو الورم الخبيث وانتشاره لذلك قد يكون bFGF هو علامة حيوية في تشخيص الاورام الخبيثة وانتشارها في النساء وهذه النتائج قد تكون مفيدة للتطبيق السريري من خلال استهداف bFGF عن طريق anti-bFGF antibody وكذلك FGFR (Lin وXing,2017), اظهرت نتائج (IHC) للدراسة الحالية كشفا موجبا ل bFGF مقارنة مع عينة السيطرة صورة رقم (1) حيث ابدى النوع المصلي Serous adenocarcinoma من حالات التي تم دراستها اظهرت حالة واحدة كشفا موجبا وبشدة عالية +++ صورة رقم (2) وحالات خرى كانت بها الشدة متوسطة ++ صورة رقم (3) وحالة كانت الشدة بها واطئة+ صورة رقم (4) بينما في حالات انتشار Metastasis اظهر شدة عالية ايضا للbFGF لذات النوع

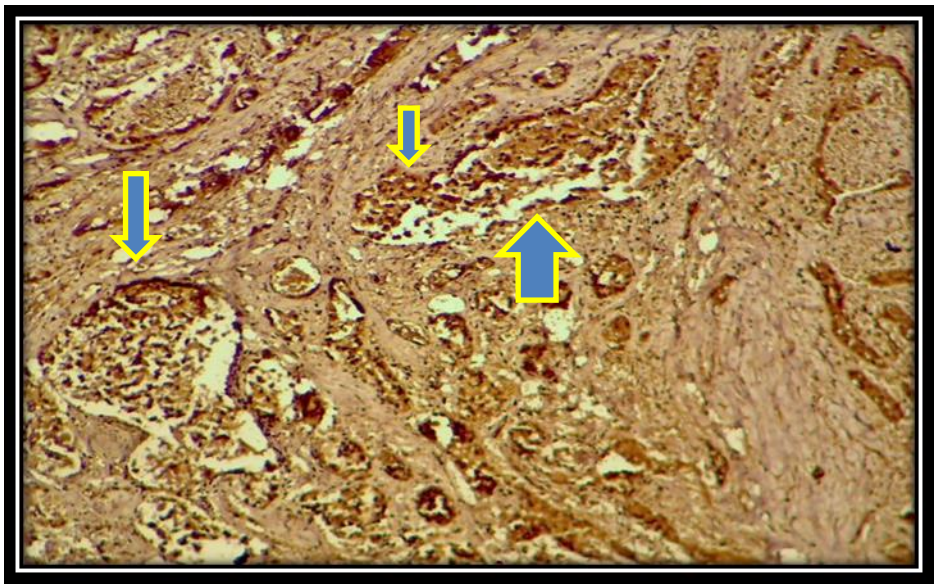
صورة رقم (5) اما بالنسبة للنوع المخاطي Mucinous كانت شدة التعبير عالية +++ في حالات صورة رقم (6) ومتوسطة ++ في حالات اخرى صورة رقم (7).

كانت الشدة عالية +++ في بعض الحالات لنوع شبيه بطانة الرحم Endometriod صورة رقم (8) وحالات اخرى ظهرت النتائج فيها بشدة واطئة + صورة رقم (9)، اما النوع ورم الخلايا الرائقة Clear cell tumor كانت شدة الكشف عالية فيه صورة رقم (10) .اما بالنسبة للنوع adenocarcinoma ابدت حالة الانتشار كشفا قويا+++ صورة رقم (11) وحالات ابدت كشفا متوسطا ++صورة رقم (12) واخرى ابدت كشفا ضعيفا+ صورة رقم (13),اما النوع ورم الخلايا الحبيبة Granulosa cell tumor فقد اعطت بعض الحالات شدة عالية+++ صورة رقم(14) وحالات اخرى شدة متوسطة ++ نحو bFGF صورة رقم (15).

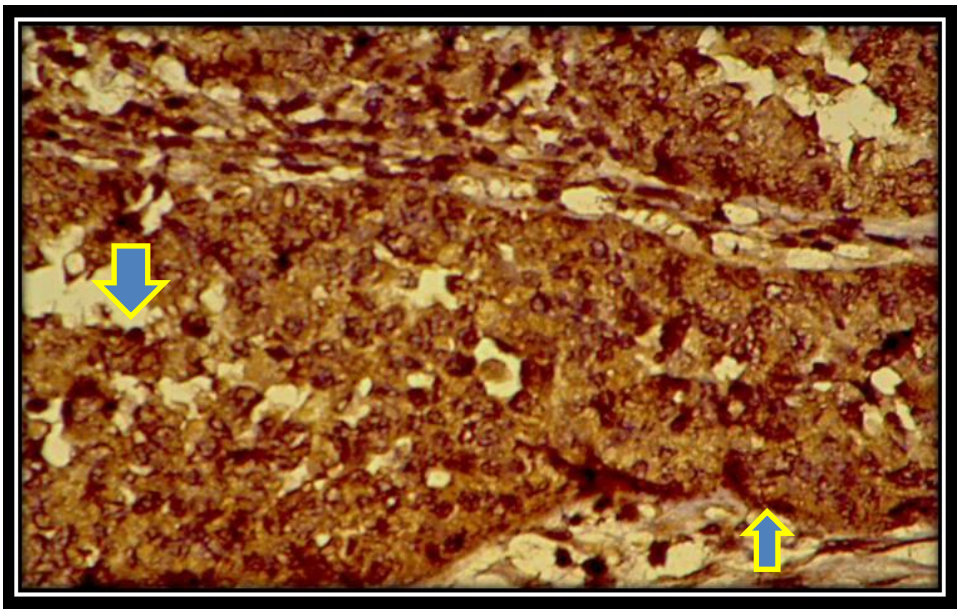
كانت شدة التعبير عن bFGF في ورم خلايا سرتولي Sertoli cell tumor متوسطة ++ صورة رقم(16) , اما النوع ورم الكيس المحي Germ cell tumor (Yolk sac tumor) كانت شدة التعبير عالية +++ صورة رقم(17) ومتوسطة ++ صورة رقم(18).اما في حالة انواع الاكياس المبيضية الكيس النزفي Hemorrhagic cyst فقد اعطى مستوى bFGF اقل شدة + صورة رقم (19) اما الكيس شبيه بطانة الرحم Endometrotic cyst اعطى شدة متوسطة ++ صورة رقم (20) ، بينما الاورام مسخية الناضجة Mature cystic teratoma ابدت شدة عالية +++ صورة رقم (21). اشارت الدراسات السابقة ان مستوى تعبير bFGF عالي ويبدي كشفا موجبا في نسج النساء المصابات بسرطان المبيض (Le-page,2006 ; Fengوآخرون,2011) وهذا ما اثبتته نتائج الدراسة الحالية ان bFGF مرتفع في نسج النساء المصابات بأنواع مختلفة من سرطان المبيض.



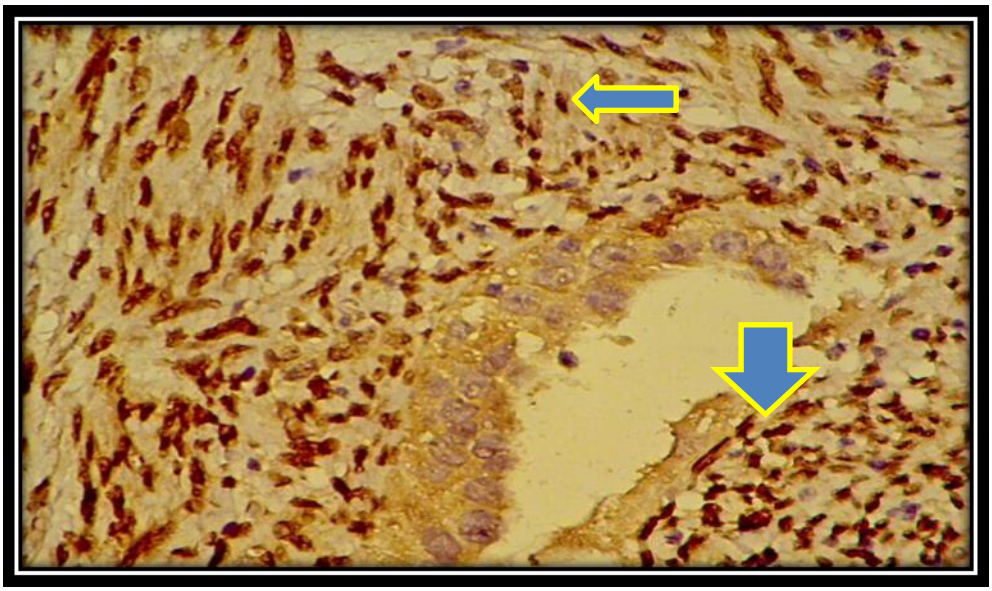
الشكل (1) مقطع نسجي عينة سيطرة في غدة البروستات اذ اظهرت الخلايا السرطانية في غدة البروستات كشفا سالبا لbFGF (40X)



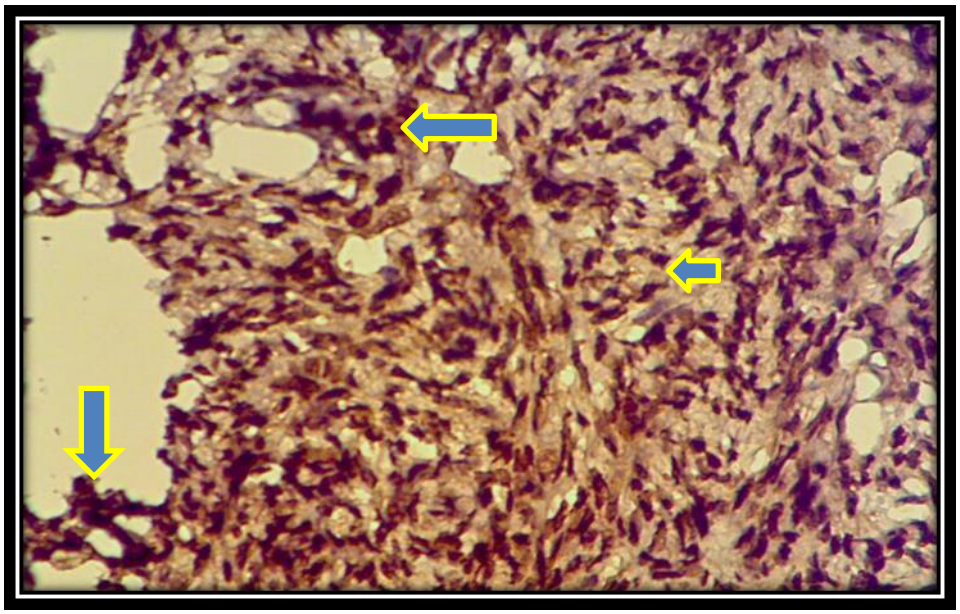
الشكل(2) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصليSerous adenocarcinoma اظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا قويا (+++) لbFGF (40X)($Scor3^{+}$)



الشكل (3) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصليSerous adenocarcinoma اظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا متوسطا (++) لbFGF (40X)($Scor3^{+}$)

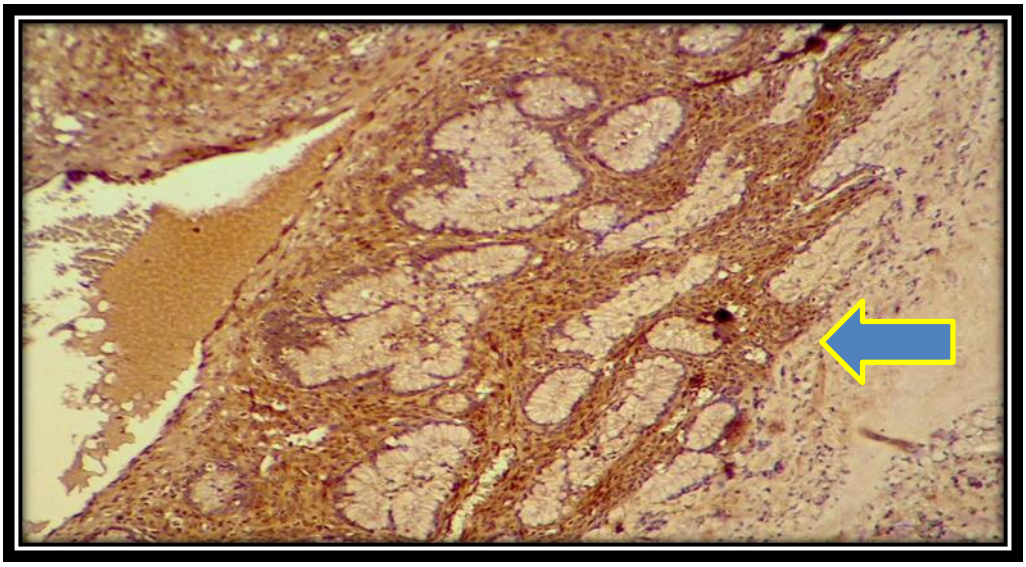


الشكل (4) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصلي Serous adenocarcinomaاظهرت الخلايا الورمية كشفا موجبا ضعيفا (+) لbFGF (40X)($Scor3^{+}$)

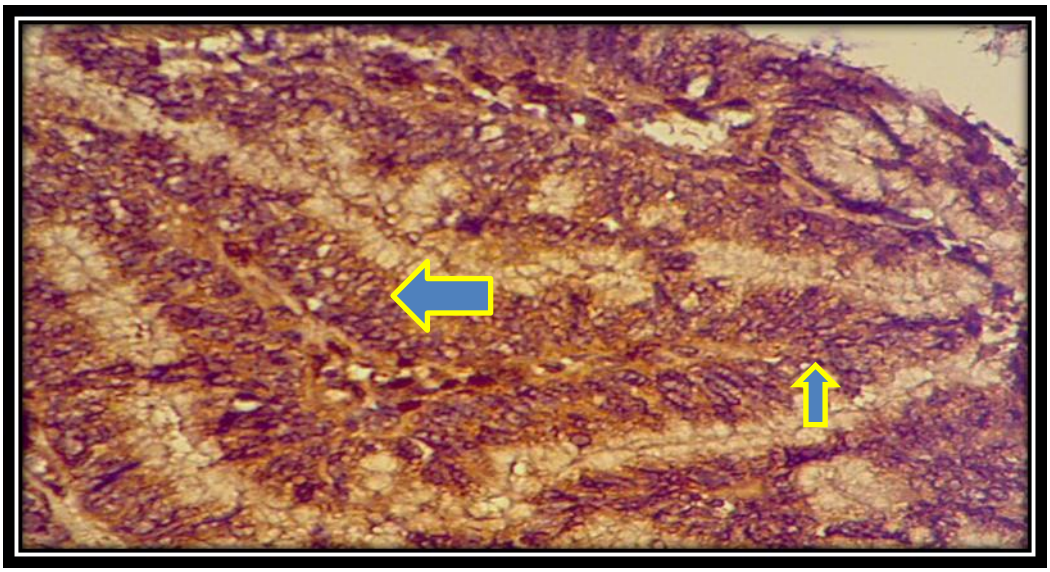


الشكل (5) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المصلي Metastasis serous adenocarcinoma في مرحلة متقدمة بلغت انتشار الورم حيث اظهر النسيج كشفا موجبا قويا (+++) لـbFGF (40X) ($scor3^{+}$)

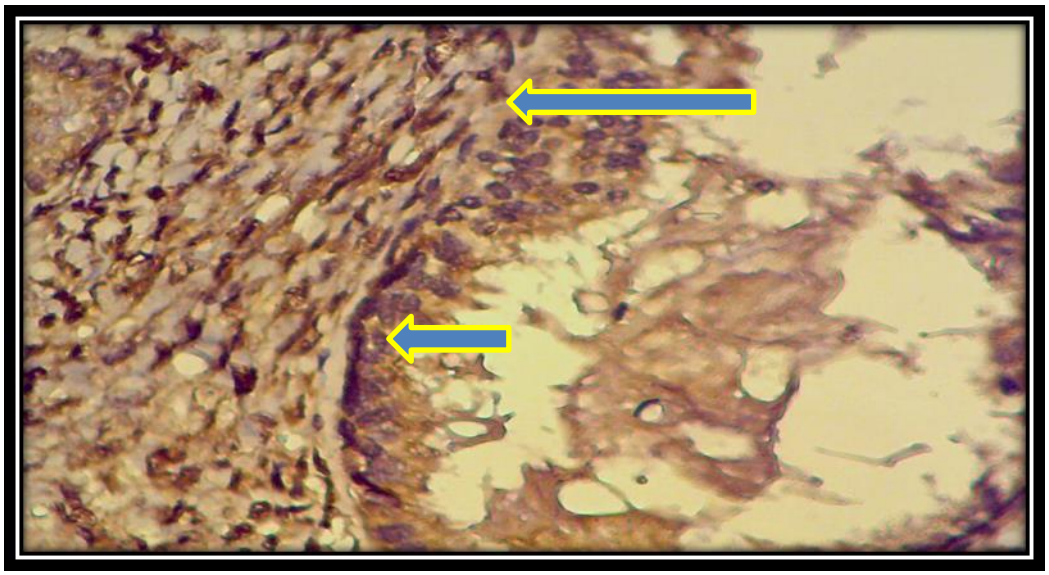
الشكل (6) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المخاطي Mucinous adenocarcinoma يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا قويا (+++) لـbFGF (40X)($Scor3^{+}$)



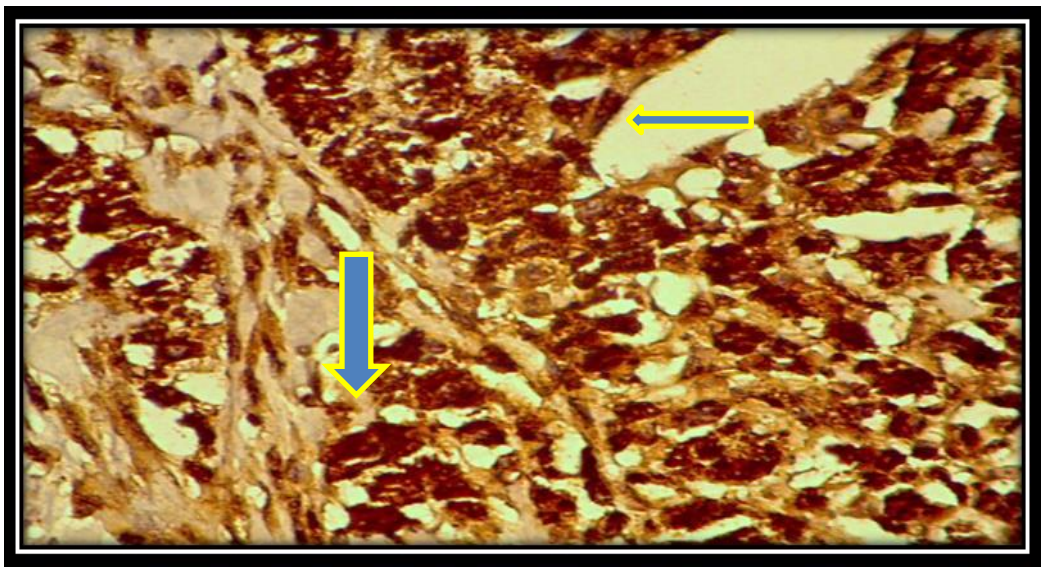
الشكل (7) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع المخاطيMucinous adenocarcinoma يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا متوسطا (++) لbFGF (40X)($Scor2^{+}$)



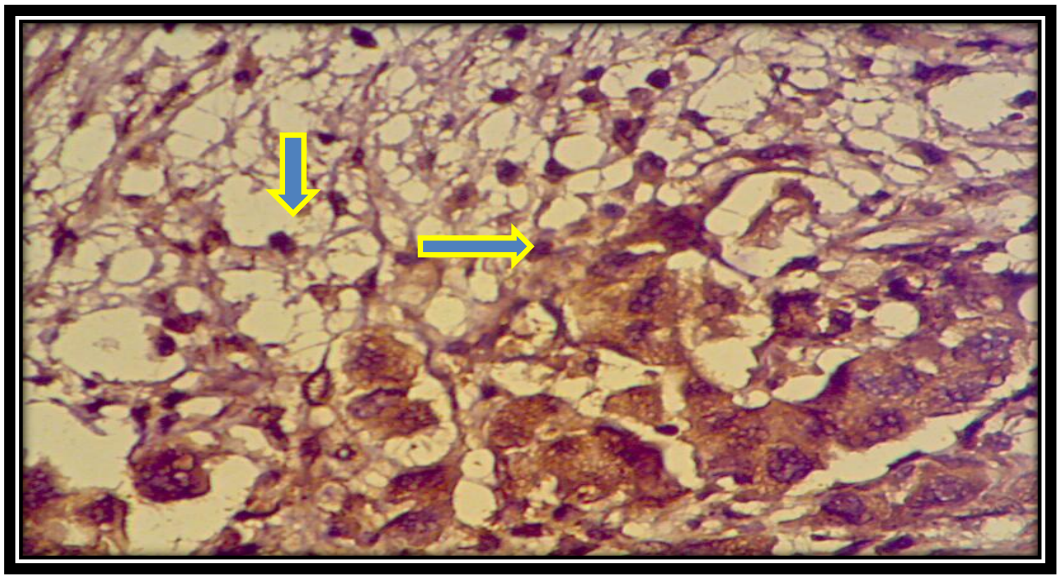
الشكل (8) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع شبيه البطانة الرحمية Endometriod يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا قويا (+++) لbFGF (40X)($Scor3^{+}$)



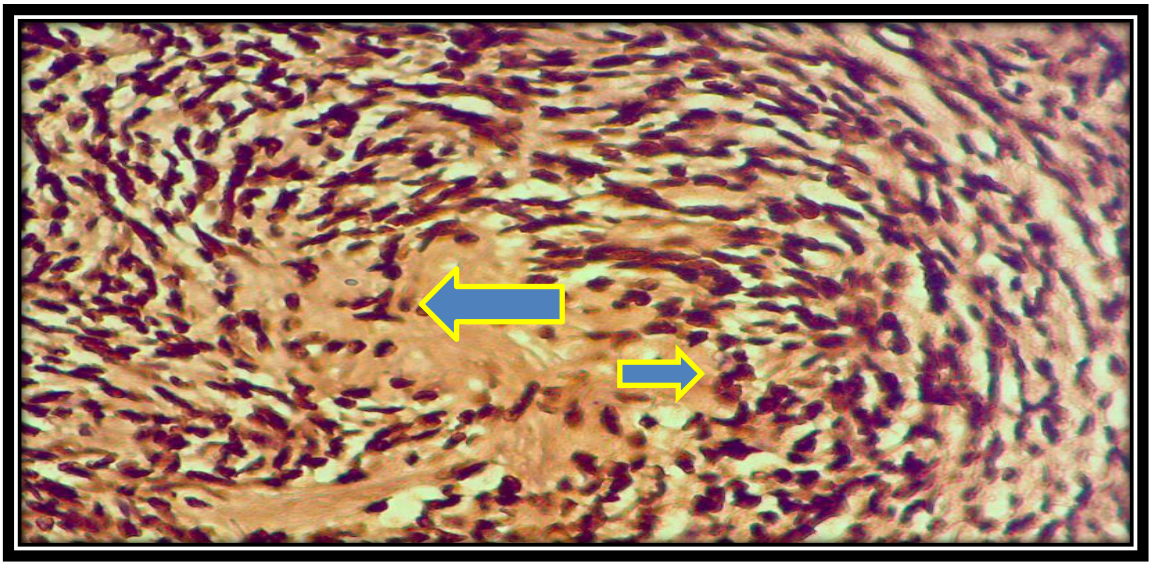
الشكل (9) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع شبيه البطانة الرحمية Endometriod يلاحظ ان النسيج ابدى كشفا ضعيفا (+) لـbFGF (40X)($Scor2^{+}$)



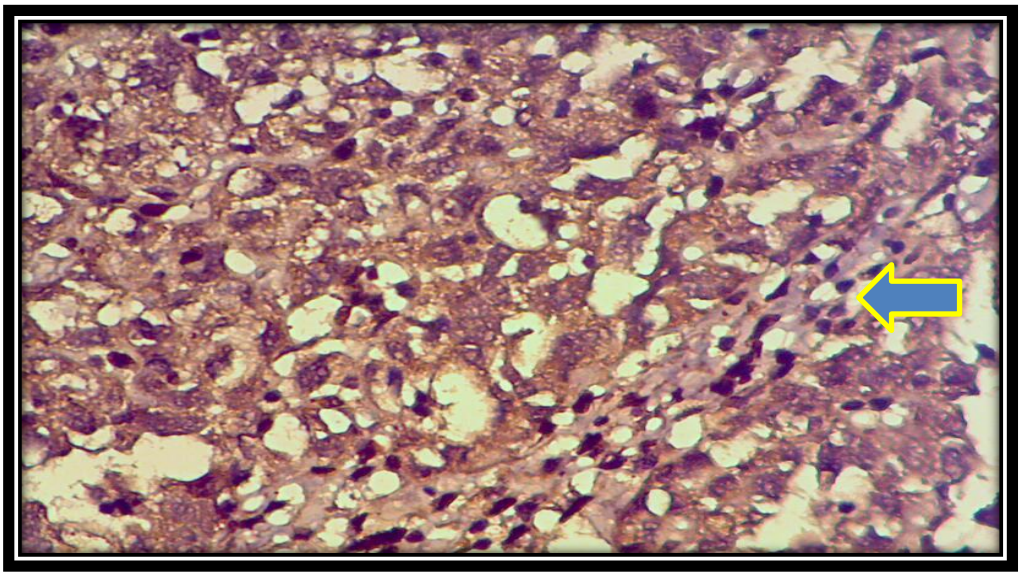
الشكل (10) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع اورام الخلايا الرائقة Clear cell tumor حيث اظهر النسيج كشفا قويا(+++) لـ bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



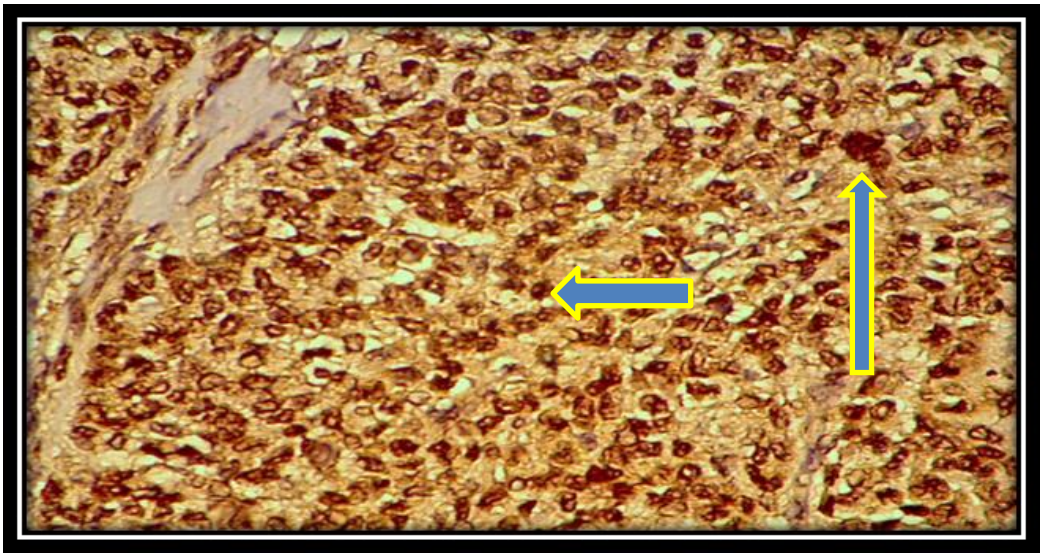
الشكل (11) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع الظهاري Metastasis Adenocarcinoma حيث اظهر النسيج كشفا قويا (+++) لـbFGF (40X)($Scor3^{+}$)



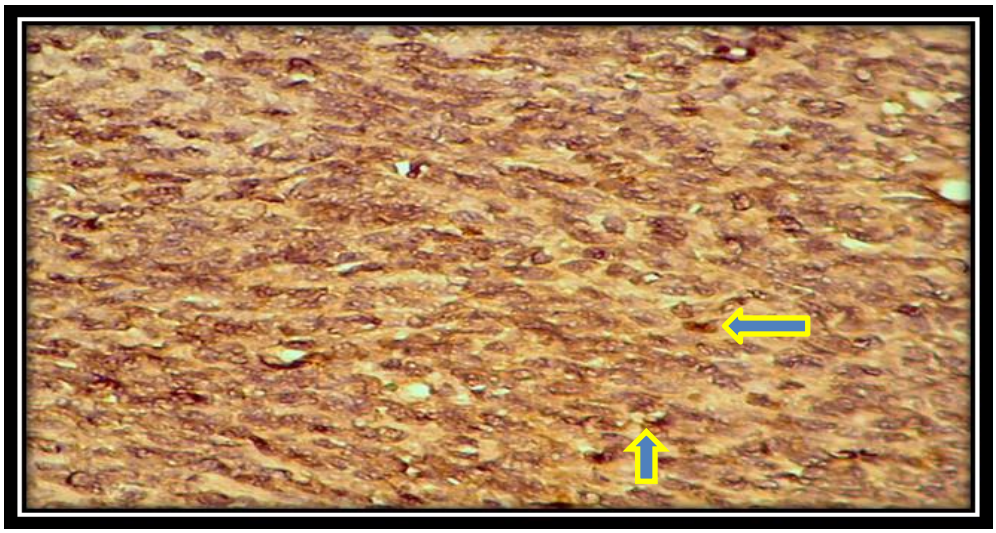
الشكل (12) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع الظهاري Adenocarcinoma أذ اظهر النسيج كشفا متوسطا (++) لـ bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



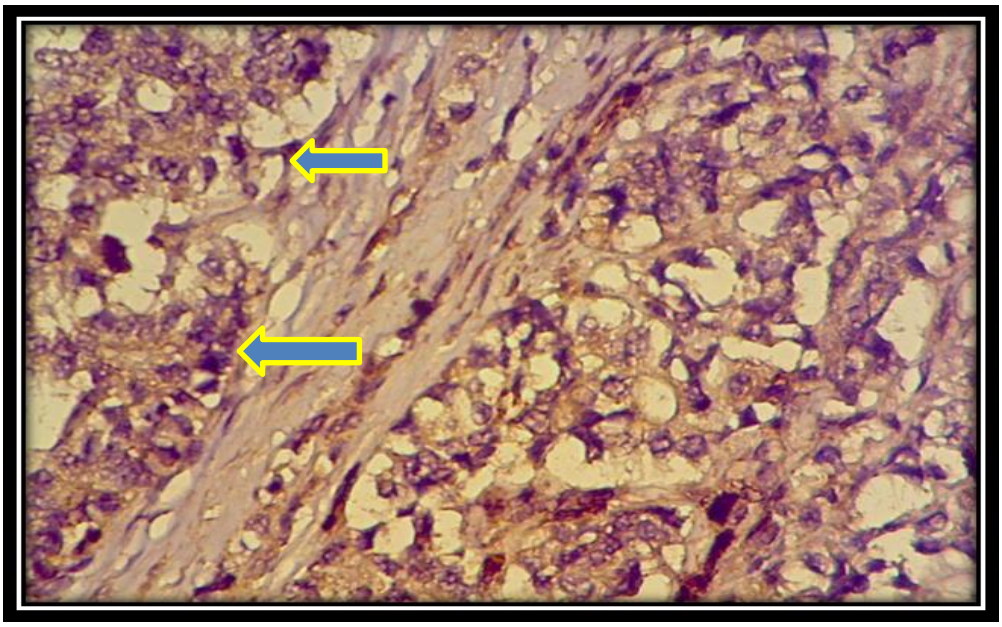
الشكل (13) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع الظهاري Adenocarcinoma أذ اظهر النسيج كشفا ضعيفا(+) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



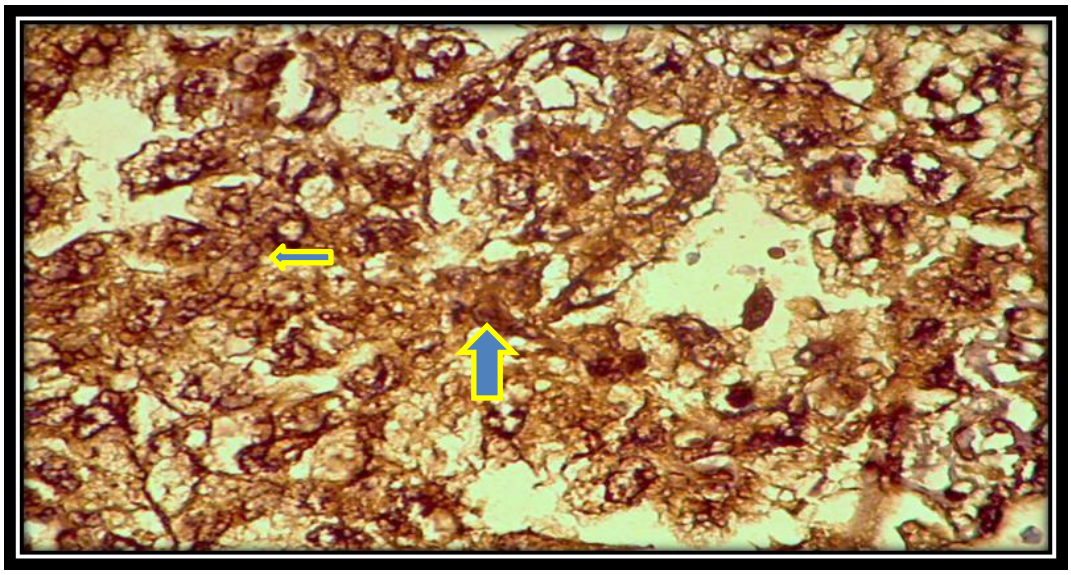
شكل (14) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع اورام الخلايا الحبيبة Granulosa cell tumorحيث اظهر النسيج كشفا قويا(+++) ل bFGF (40X)($scor3^{+}$)



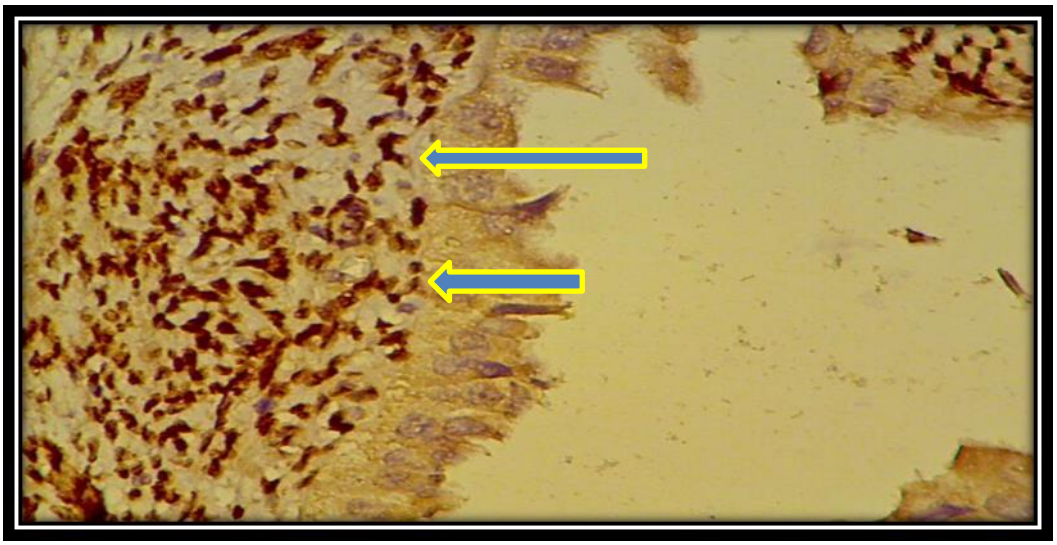
الشكل (15) مقطع نسجي في ورم مبيضي من النوع اورام الخلايا الحبيبة Granulosa cell tumor أذ اظهر النسيج كشفا متوسطا(++) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



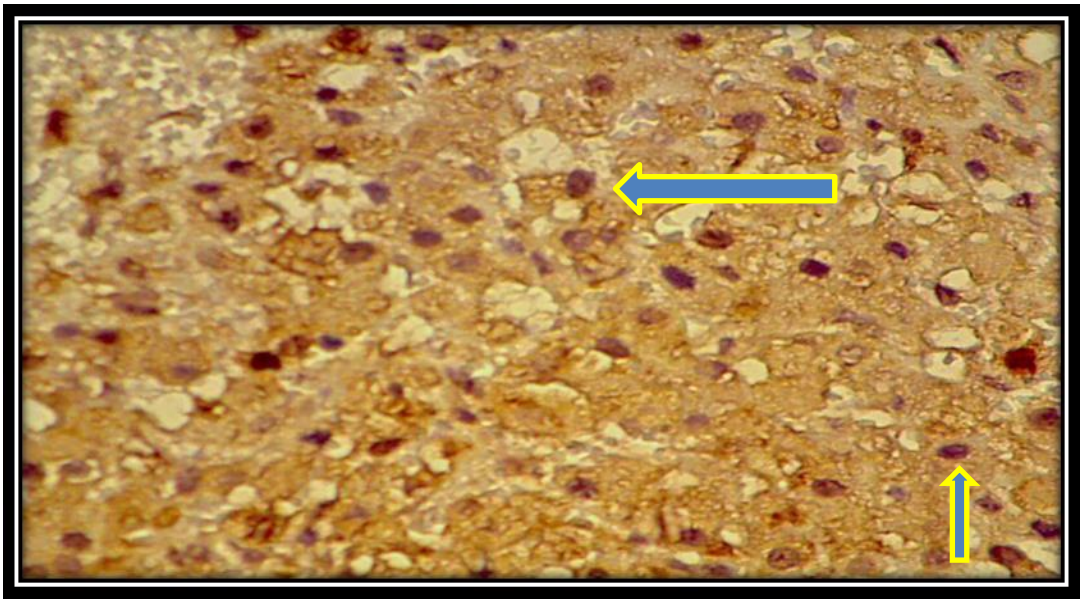
الشكل (16) مقطع في نسيج سرطان المبيض من النوع سرطان خلايا سرتولي Sertoli cell tumor اعطى النسيج كشفا متوسطا(++) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



الشكل (17) مقطع نسجي في سرطان المبيض من النوع سرطان الكيس المحي Yolk sac tumor أذ يظهر النسيج كشفا قويا(+++) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)

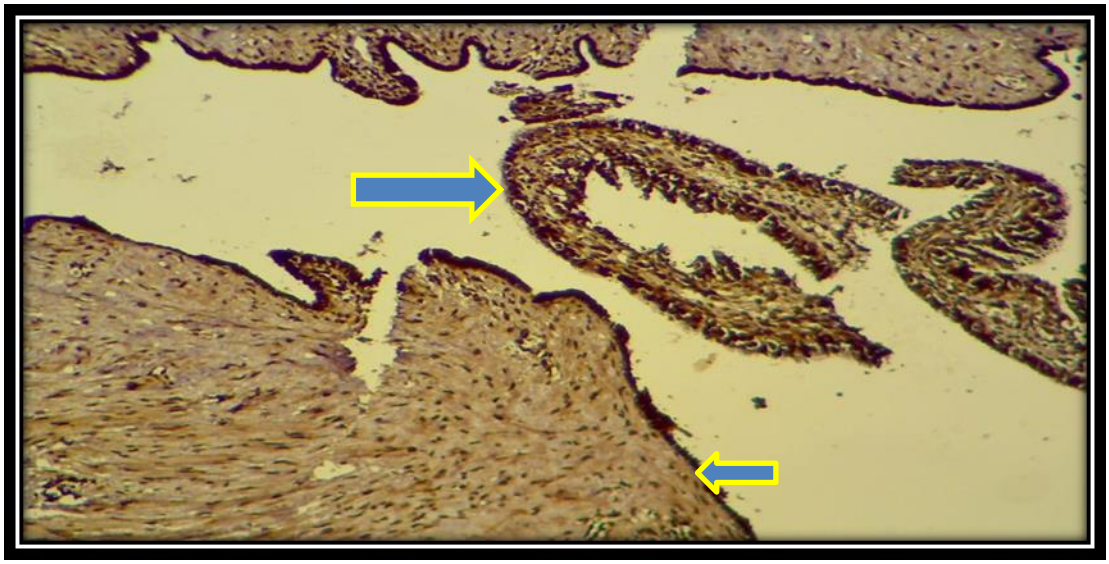


الشكل (18) مقطع نسجي في سرطان المبيض من النوع سرطان الكيس المحي Yolk sac tumor أذ يظهر النسيج كشفا متوسطا (++) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



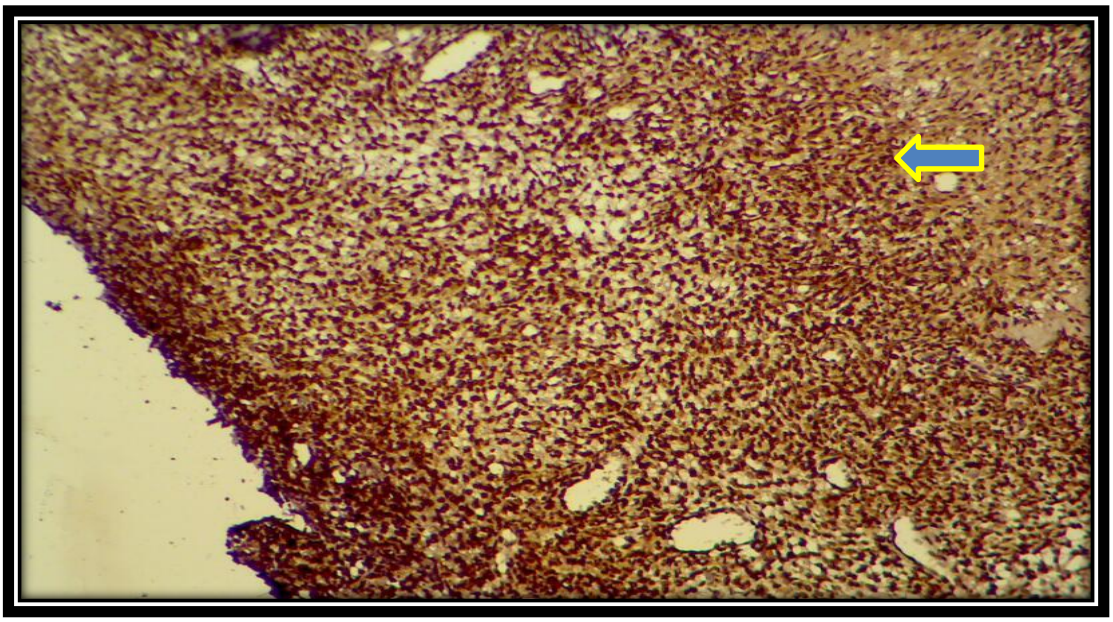
الشكل (19) مقطع نسجي في كيس مبيضي من النوع اللوتيني النزفي Hemorrhagic corpous Lutes

يلاحظ ان هذا النوع من الاكياس المبيضة تظهر كشفا ضعيفا (+) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



الشكل (20) مقطع نسجي في كيس مبيضي من النوع شبيه البطانة الرحميةEndometriotic cyst يلاحظ

ان هذا النوع من الاكياس المبيضة تظهر كشفا متوسطا (++) ل bFGF (40X)($Scor3^{+}$)



الشكل(21) مقطع نسجي في كيس مبيضي من النوع الاورام المسخية Mature cystic teratoma يلاحظ ان هذا النوع من الاكياس المبيضة تظهر كشفا قويا (+++) ل bFGF (40X)($Scor2^{+}$)

الاستنتاجات والتوصيات

1- الاستنتاجات :-

1- يميل سرطان المبيض الى الظهور لدى النساء عند التقدم في السن وخاصة في سن55 ≥ عاما.

2- كانت اورام خلايا السطح الظهارية الاكثر شيوعا من بين انواع اورام المبيض الاخرى ثم تلتها اورام السدى – الحبل الجنسي و اورام الخلايا الانتاشية.

3- ارتفاع مستوى bFGF في مصل النساء المصابات بأنواع سرطان المبيض المختلفة مقارنة بالمجاميع الاخرى والاكثر من ذلك لوحظ ان مستوى bFGF كان عاليا لدى المريضات في المراحل المتقدمة من المرض.

4- ارتفاع مستوى CA125 في مصل النساء المصابات بأنواع سرطان المبيض المختلفة مقارنة بالمجاميع الاخرى.

5- اثبتت الدراسة الحالية ان bFGF اكثر حساسية من CA125.

6- ابدت المقاطع النسجية التي درست بتقنية الكيمياء النسجية المناعية (IHC)لانواع سرطان المبيض المختلفة كشفا موجبا لbFGF مع ملاحظة ان الكشف كان قويا في الانواع التالية منها النوع المصلي serous adenocarcinoma, النوع المخاطي Mucinous, adenocarcinoma النوع شبيه بطانة الرحم Endometriod, النوع اورام الخلايا الرائقة , Clear cell tumor الاورام الظهارية Adenocarcinoma, اورام الخلايا الحبيبة Granuolosa cell tumor, ورم الكيس المحي Yolk sac tumor.

2-التوصيات :-

1- البحث عن مؤشرات حيوية اخرى لها علاقة بسرطان المبيض قد تساعد في الكشف المبكر عن المرض.

2- دراسة الجينات التي تعبر عن مستقبلات bFGF بتقنية PCR للتحري عن احتمالية وجود طفرات في هذه الجينات.

3- الكشف عن وجود طفرات في الجينات التي تشفر bFGF.

4- اجراء دراسة خارج الجسم الحي *in vitro* للتعرف على الالية التي تثبط مسارات تنشيط bFGF كهدف واعد للعلاج ضد عوامل التولد الوعائي.

المصادر

- الخياط, محمد, هيثم.(2006).المعجم الطبي الموحد. الطبعة الرابعة. منظمة الصحة العالمية ومكتبة لبنان–ناشرون ,ص 1862 .
- الفتلاوي، ظافرة جعفر و العارضي، فاطمة كاظم (2008). دراسة نسجية لبعض انواع سرطان المبيض الظهاري عند النسوة المصابات في مركز الفرات الاوسط للأورام. مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية والعلوم الهندسية، 16 (2): 32–44.

- Akbulut, M.; Kelten, E.C. and Ege, C.B. (2006). Mature cystic teratoma with predominately neurogenic elements case report. Aegean pathol. J.,3: 18-20.
- Akl, M. R.; Nagpal, P.; Ayoub, N. M.; Tai, B.; Prabhu, S. A.; Capac, C. M.; Suh, K. S. (2016). Molecular and clinical significance of fibroblast growth factor 2 (FGF2/bFGF) in malignancies of solid and hematological cancers for personalized therapies. Oncotarget, 7(28), 44735.
- Albini, A.; Bruno, A.; Gallo, C,; Pajardi, G,; Noonan D.M. and Dallaglio K. (2015). Cancer stem cells and the tumor microenviroment interplay in tumor heterogeneity. CONNECT TISSUE RES., 56(5):414-425.
- Aljohani, A. M. (2017). Hormonal imbalance and ovary cancer. Int .J. Sci. Eng. Res., vol.8: 282-286.
- Amino, N.; Ideyama, Y.; Yamano, M.; Kuromitsu, S.; Tajinda, K.; Samizu, K.; Shibasaki, M. (2006). YM-359445, an orally bioavailable vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor, has highly potent antitumor activity against established tumors.Clin. Cancer Res., 12(5), 1630-1638.
- Austin, R.M. and Norris, H.J. (1987). Malignant Brenner tumor and transitional cell carcinoma of the ovary: a comparison. International Journal of the international pathology: Official Journal of the International society of Gynecological pathologists, 6(1), pp.29-39.
- Babic, A.; Cramer, D.W. Kelemen, L. E.; Koble, M.;Steed, H.; Webb, P.M.; Johnatty, S.E.; Defazio, A.; Lambrechts, D.; Coodman, M.T. and Heitz, F. (2017). Predictors of pretreatment CA125 at ovarian Cancer diagnosis a pooled analysis in the ovarian Cancer Association Consortium. Cancer causes & control, 28 (5), pp.459-468.
- Badgwell, and Bast Jr.R.C.(2007).Early detection of ovarian cancer.J. Dis. Markers,23(5-6),pp.397-410.

- Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1996). Theory and practice of histological techniques 4th ed, Churchill Livingstone, New York: 766 p.
- Bast Jr, R.C.; Kiug, T.L.; John, E.S.; Jenison, E.; Niloff, J.M.; Lazarus, H.; Berkowitz, R.S.S.; Leavitt, T.; Griffiths, C.T.; Parker, L. and Zurawski Jr, V.R.(1983). Radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the cause of epithelial Ovarian cancer. N. Engl. J. Med., 309(15), PP. 883-887.
- Bast, R. C.; Hennessy, B. and Gordon, B.M. (2009). The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. Nat. Rev. Cancer, 9(6): 415. doi.
- Bast, R. C.;Badgwell, D.; Lu, Z.; Marqne, R.; Rosen, D.; Liu, J.; Baggerly, K.A.; Atkinson, E. N.; Skates, S.; Zhang, Z. and Lakshin, A. (2005).New tumor markers: CA125 and byond .IJGC., 15(suppl3), pp. 274-281.
- Behrens,C.;Lin,H.Y.;Lee,J.J.;Raso,M.G.;Hongn,W.K.;Wistubam,I.Ia nd Lotan,R.(2008).Immunohistochemical expression of basic fibroblast growth factor and fibroblast growth factor receptor 1 and 2 in the pathogenesis of lung cancer.Clin. Cancer Res., 14(19),PP.6014-6077.
- Beenken,A.and Mohammedi,M.(2009).The FGF family ,biology,pathophysiology and therapy.Nat. Rev. Drug Discov., 8(3),p.235.
- Bikfalvi,A.;Klein,S.;Pintucci,G. and Rifkin, D.B.(1997). Biological roles of fibroblast growth factor-2. Endocrine Rev., 18: 26-45.
- Böhlen,P.;Baird,A.;Esch,F.;Ling,N.and Gospodarwicz,D.(1984). Isolation and partial molecular characterization of pituitary fibroblast growth factor.Proc.Nati.Acad.Sci.,81: 5364-5368.

- Boussios, S.; Zarkavelis, G.; Seraj, E.; Zerdes, I.; Tatsi, K.; Pentheroudakis, G. (2016). Non-epithelial ovarian cancer: elucidating uncommon gynaecological malignancies. Anticancer Res., *36*(10), 5031-5042.
- Bottoni, p and scatena, R. (2015). The role of CA125 as Tumor markers Biochemical and clinical Aspects. In Advances in Cancer biomarkers. Pp. 229-244.
- Brinton, L. A.; Moghissi, K. S.; Scoccia, B.; Westhoff, C. L.; Lamb, E. J. (2005). Ovulation induction and cancer risk. Fertility and sterility, 83(2), 261-274.
- Brown, P.O. and Palmer, C. (2009). The preclincal natural history of serous ovarian cancer: defining the target for early detection. Plosmedicine, 6: e1000114.
- Carpenter,G .and Cohen ,S .(1990). Epidermal growth factor. J. Biol . Chemist.,265 (14):7709- 7712.
- Chandanwale, S.S.; Jadhave, R.; Rao, R.; Naragude, p.; Bhamnikar, S. and Ansari: J.N. (2017). Clinicopathologic study of malignant ovarian tumors: a study of difty cases. medical Journal of Dr. D. Y. patil university, 10: 430-437.
- Chao, K-C.; Wang, P.H.; Yen, M-S.; Chang, C-C and Chi, C-W. (2005). Role of Estrogen and progesterone in the survival of ovarian tumors- a study of the human ovarian adenocarcinoma cell line OC-117-VGH.J. Chin med.Assac .vol.68(8): 360-367.
- Chen, V.W.; Ruiz, B.; Killeen, J.; Cote, T.R.; Wn, X. C.; Correa, C.N. and Howe, H.L. (2003). Pathology and classification of Ovarian tumors. Cancer: Interdisciplinary international Journal of American cancer society, 97 (slo), pp. 2631-2642.

- Cho, I. and Lim, S. (2016). Clear cell adenocarcinoma arising from adenofibroma in a patient with endometriosis of the ovary. J. pathol. Transl. Med., 50:155-159.
- Clarke, B. and Gilks, B.(2011).ovarian carcinoma recent developments in classification of tumor histological subtype. CAN. J. Pathol., 33-45.
- Colombo, N.; Van Gorp, T.; Parma, G.; Amant, F.; Gatta, G.; Sessa, C.; Vergote, I. (2006). Ovarian cancer. CRIT. REV. ONCOL. HEMAT. , 60(2), 159-179.
- Dai, S.; Zhou, Z.; Chen, Z.; Xu, G. and Chen, Y. (2019). Fibroblast growth factors receptors (FGFR): Structures and small molecule inhibitors. Cells, 8(6), p. 614.
- Das,P.M. and Bast,R.C.(2008).Early detection of ovarian cancer Biomarker.Med.,2(3):291-303.
- DeIaco, P.; Perrone, A.M. procaccini, M,; Pellegrini, A. and Morice, P. (2013). Natural history of epithelial ovarian cancer and its relation to surgical and medical treatment .World J. Obstet. Gynecol., 2(4): 137-142.
- Deka, M.; Saikia, C.J and Bezbaruah, R. (2016). Analysis of germ cell tumors of ovary in a tertiary care hospital: a two year retrospective study. Int. J. sci. study, 4:173-177.
- Dirix, L.Y.; Vermeulen, P.B.; Pawinski, A.; Prove, A.; Benoy, I.; Depooter, C.; Martin, M. and Vanoosterom, A.T. (1997). Elevated level of antigenic cytokines basic fibroblast growth factor in Sera of Cancer patients. British: J. Cancer, 76(2), p. 238.
- Di Blasio, A. M.; Carniti, C.;Vigano, P.; Vignali, M. (1995). Basic fibroblast growth factor and ovarian cancer. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. , 53(1-6), 375-379.

- Dochez,V.;Caillon,H.;Vaucel,E.;Dimet.J,;Win,N.;Duccarme,G.(2019) .Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer:CA-125,HEU,RMI and ROMA, areview .Journal of ovarian research,12(1),p.28.
- Doufekas, K.;and Olaitan, A. (2014). Clinical epidemiology of epithelial ovarian cancer in the UK. Int. J. women's health, 6, 537.
- Dubeau, L. (2008). The cell of origin of ovarian epithelial tumors. Lancet Oncol., 9(12): 1191-1197.
- Duffy,M.J.;Bonfrer,J.M.;Kupla.J.;Rustin,G.J.S.;Soletormos,G.;Torre, G.C.;Tuxen,M.K.and Zwirner,M.(2005).CA-125 in ovarian cancer:European and Zwirner,M.,Tumor Markers guidelines for clinical use.Int. J. Gyncol. cancer,15(5),pp679-691.
- Duraisamy, S.;Ramasamy, S.; Kharbanda, S. and Kufe, D. (2006). Distinct evolution of the human carcinoma- associated transmembrane mucins, Muc1, Muc4 and Muc16. Gene, 373, pp. 28-34.
- Enzinger, F. M. (1970). Epitheloid sarcoma: a sarcoma stimulating a granuloma or a carcinoma. cancer, 26: 1029-1041.
- Even-chen,O.and Barak,S.(2019).The role of fibroblast growth factor 2 in drug addiction.Eur. J. Neorosci.,50(3),2552-2561.
- Fathalla, M.F. (1971). Incessant ovulation- a factor in ovarian neoplasia. Lancet, 2: 163. (only abstract).
- Fathalla, M.F. (2013). Incessant ovuiation and ovarian cancer- a hypothesis- visited, FVV in OB. Gyn., 5 (4): 292-297.
- Feng, Q. L.; Shi, H. R.; Qiao, L. J.; Zhao, J. (2011). Expression of hSef and FGF-2 in epithelial ovarian tumor. Zhonghua zhong liu za zhi [Chinese journal of oncology], 33(10), 770-774.

- Gaabi,J.N.(2018).Evaluation of WT1 gene expression as adignostic and prognostic marker in epithelial ovarian cancer.Albahir J.,9(15-16),pp.35-45
- Ghartimagar, D.; Ghosh, A. KC. G.; Ranabhat; S. and Talwar, O.P. (2013). Surface epithelial tumors of ovary- an analysis in atertiary referral hospital. J. pathol. Nepal.3:397-402.
- Girie,D.;Ropiquet,E.and Ittmann,M.(1999).Alterations in expression of basic fibroblast growth factor(FGF)2and its receptor FGFR-1 in human proststst cancer.Clin. Cancer Res.,5(5),PP.1063-1071.
- Glud, E.; Kjaer, S. K.; Thomsen, B. L.; Høgdall, C.; Christensen, L.; Høgdall, E.; Blaakaer, J. (2004). Hormone therapy and the impact of estrogen intake on the risk of ovarian cancer. Arch. Int. Med., 164(20), 2253-2259.
- Goff, B. A.; Mandel, Y.; Muntz, H.G. and Melancon, C.H. (2000). Ovarian carcinoma diagnosis Results of a national ovarian cancer survey. Cancer, vol.89: 19p.
- Gubbels, J. A.A.; Claussen, N.; Kapur, A.; Connor J.P. and patankar, M. (2010). The detection, treatment and biology of epitheloial ovarian cancer. J. Ovarian Res., 3:8.
- Gupta, D.;and Lis, C. G. (2009). Role of CA125 in predicting ovarian cancer survival-a review of the epidemiological literature. J. ovarian Res., 2(1), 13.
- Habib, K. A., Jumaa, M. G., & Hussein, M. J. (2015). Determination of Serum CA125 and evaluate its efficiency as screening tool For Early Detection of Ovarian Tumors. Baghdad Sci. J., 12, 1.
- Han, J.H.; Kim, D.Y.; Lee, S.W.; Park, J.Y.; Kim, J.H.; Kim, Y.; kim, Y.T. and nam, J.H. (2015). Intensive systemic chemotherapy is

effective against recurrent malignant brenner tumor of the ovary: Analysis of 10 cases with in a single center. TAIWAN J. OBSTET GYEN., 54(20, PP. 178-182.

- Hanahan, D. and Weinberg, R. (2000). The hallmark of Cancer. Cell, 100:57-70.
- Haroon, S.; Zia, A.; Idrees, R.; Memon, A.; Fatima, S. and kayani, N. (2013). Clinicopathological spectrum of ovarian sex cord- stromal turnors; 20 years retrospective study in a developing country. J. Ovarian Res., 6:87.
- Hasdemir, P.S.; Guvenal, T.; Menekse, S.; Solmaz, U.; Kandiloglu, A.R.; Koynucu, F. M. and Ayhan, A. (2016). Ovarian immature teratoma detected during pregnancy. Med. Sci. Discov., 3(1):1-6.
- Hayashi, S.; Abe, Y.; Tomita, s.; Nakanishi, Y.; Miwa, S.; Nakajima, T.; Nomoto, K.; Tsuneyama, K.; Fujimori, T. and Imura, J. (2015). Primary non- gestational pure choriocarcinoma arising in the ovary: A case report and literature review.oncology letters, 9:2109-2111.
- Helzlsouer, K.J.; Bush, T.L.; Alberg, A. S.; Bass, K.M.; Zzcur, H. and Comstock, G.W. (1993). Prospective study of serum CA125 levels as Markers of ovarian Cancer. Jama, 269(9), pp. 1123-1126.
- Hu, M. Y.; He, J. and Li, B. (2016) prognostic value of basic fibroblast growth factor in lung Cancer: Asystematic review with meta-analysis. Plos one. 99: (1): e0147374.
- Husain, H.Y and Al-Alawachi, S. F. A. (2014). Incidence rates, pattern and time trends of registered cancer in Iraq (1991-2008) population and hospital based registry. OALib J., 1(1), 1-6.

- Hussein , M.J. and Salai, J.S. (2019). Clinical and histopathological features of ovarian cancer in Rizary hospital/ Erbil city from 2014 to 2017. Med. J. Babylon, 16:112-118.
- Idikio, H.A. (2011). Human cancer classification :A Systems biology-Based Model integrating Morphology, cancer stem cells proteomics and genomics. J. cancer. 2: 107-115.
- Iraq cancer board. (2018). Annual report Iraqi cancer registry: 137pp.
- Jain, M.; Budhwani, C,; Jain, A.K. and Hazari, R.A.(2013). Pregnancy with ovarian dysgerminoma: An unusual diagnosis. IOSR- JDMS, 11:53-57.
- Johnson, C. C.; Kessel, B.; Riley, T. L.; Ragard, L. R.; Williams, C. R.; Xu, J. L.; Buys, S. S. (2008). The epidemiology of CA-125 in women without evidence of ovarian cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer (PLCO) Screening Trial. Gynecol. Oncol., 110(3), 383-389.
- Jumaa,M.G.(2013).Detection the role of angiogenesis in ovarian cancer by molecular genetic and immunological approaches.Ph.D.Thesis,College of science for women,Baghdad Uni,:183p.
- Karst, A. M. and Drapkin, R. (2009). Ovarian cancer pathogenesis: a model evolution. J. Oncol., vol.2010: 13p.
- Khader, Y. S.; Sharkas, G.F.; Arkoub, K.H.; Alfaqih, M.A.; Nimri, O.F. and Khader, A.M. (2018). The epidemiology and trend of cancer in jordan, 2000-2013. J. Cancer Epidemiol., vol.2018: 7p.
- Khoshnaw, N.; Mohammed, H. and Abdullah, D. A. (2015). Patterns of cancer in kurdistan- results of eight years cancer registration in

sulaymaniyah province-Iraq. Asian Pac. J. Cancer Prev., vol.16: 8525-8531.

- Kumar,V.;Abbas,A.K. and Aster.J.C.(2018).Robbins basic pathology.10th ed.Elsevier,Pliladelphia:Xi+908p.
- Kumar,V.;Abbas,A.K.;Fausto,N. and Mitchell,R.N.(2007).Robbins basic pathology.Elsevier,Saunders:Xiii+946p.
- Kurman, R. J.; Shih, I. M. (2008). Pathogenesis of ovarian cancer. Lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications. International journal of gynecological pathology: official journal of the International Society of Gynecological Pathologists, 27(2), 151.
- Lemmon,M.A.; and Schlessinger,J.(2010).Cell signiling by receptor tyrosine kinases.Cell,141(7),1117-1134.
- Lepag,C.;Ouellet,V.;Madore,J.;Hudson,T.J.;Tonin,P.N.;Provencher,D.;Mes-Masson,A.M.(2006).From gene profiling to diagnostic markers:IL-18 and FGF-2 complement CA125 as serum based markers in epithelial ovarian cancer.Int.J.Cancer,118(7),1750-1758.
- Lin, X.; Ma, Y.; Qian, T.; Yao, J.; Mi, Y.; Zhang, C. (2019). Basic fibroblast growth factor promotes prehierarchical follicle growth and yolk deposition in the chicken. Theriogenology, 139, 90-97.
- Liu, M.; Xing, L. Q. (2017). Basic fibroblast growth factor as a potential biomarker for diagnosing malignant tumor metastasis in women. Oncolo. Lett., 14(2), 1561-1567.

- Low, J.J.H.; Franzcoc, F.; Ilsncheran, A. and Joseph, S. Ng. (2012). Malignant ovarian germ- cell tumors. BEST. PRACT. RES. CL. OB., 26: 347-355.
- Mørch, L. S.; Løkkegaard, E.; Andreasen, A. H.; Krüger-Kjær, S.; Lidegaard, Ø. (2009). Hormone therapy and ovarian cancer. JAMA., 302(3), 298-305.
- Madsen, C. V.; Steffensen, K. D.; Olsen, D. A.; Waldstrøm, M.; SØGAARD, C. H.; Brandslund, I.; and Jakobsen, A. (2012). Serum platelet-derived growth factor and fibroblast growth factor in patients with benign and malignant ovarian tumors. Anticancer Res., 32(9), 3817-3825.
- Maira, M.S.; pearson, M.A.; Fabbro, D. and Garcia- Echeverria C. (2007) .Cancer biology. MDCH: 00202.
- Maringe, C.; Walters, S.; Butler, J.; Coleman, M. P.; Hacker, N.; Hanna, L.; Gjerstorff, M. L. (2012). Stage at diagnosis and ovarian cancer survival: evidence from the International Cancer Benchmarking Partnership. Gynecol. Oncol., 127(1), 75-82.
- MDijkgraadf,E.;JPwelters,M.;WR Nortier,J.;Hvander Burg,S.;and R kroep,J.(2012).Interleukin-6/interlukin-6 receptor pathway as a new therapy target in epithelial ovarian cancer.Curr. Pharm. Des.,18(25+),3816-3827.
- Meng,Y.;Bai,X.;Huang,Y.;He,L.;Zhang,Z.;Li,X.;Yang,X.(2019). Basic fibroblast growth factor signaling regulates cancer stem cells in lung cancerA549cell.Journal of Pharmary and Pharmacology,71(9),1412-1420.

- Meany, D.L.; Sokoll, L.J and Chan, D.W. (2009). Early detection of cancer: Immunoassay for plasma tumor markers. Expert Opin. Med. Diagn., 3(6), PP.597-605.
- Mendelsohn, J. (2001). The epidermal growth factor receptor as a target for cancer therapy. Endocrine – Related Cancer , 8 : 3-9.
- Momenimovahed, Z.; Tiznobaik, A.; Taheri, S.; Salehiniya, H. (2019). Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. Int. J. women's health, 11, 287.
- Mohammed,Z.S.;Kadhim,H.J.;Hussen,R.M. and Sala,A.H.(2018). Detection of ovarian cancer by osteopontin and CA-125 in AL-Najaf and Karballa provinces/Iraq.J.Pharm.Sci.Res.,10(12):3351-3354.
- Murphy, M.; Drago, J.and Bartlett, P. F. (1990). Fibroblast growth factor stimulates the proliferation and differentiation of neural precursor cells in vitro. J. Neurosci. Res., 25(4), 463-475.sited by Yun, Y. R.; Won, J. E.; Jeon, E.; Lee, S.; Kang, W.; Jo, H.and Kim, H. W. (2010). Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. J. Tissue Eng., 1(1), 218142.
- Muhi,S.A.; Abdulhussain,M.D. (2014). Study of CA125, HCG and Seromucoid in Sera of Patients with ovarian Cancer. Int. J. Sci. Technol., 143 (1734), 1-7.
- Müller,A.L.;Meyer,M. and Werner,S.(2012).The role of receptor tyrosine kinases and their ligands in the Wound repair process. SEMIN.CEEL DEV.BIOL.,23(9),963-970
- Ornitz, D. M. and Itoh, N. (2015). The fibroblast growth factor signaling pathway. WIRES: Deve. BIOL., 4(3), 215-266.

- Outwater, E.K.; Wagner, B.J.; Mannion, C. and Mclarney, J.K. (1998).sexcord- stromal and steroid cell tumors of the ovary. from the Archives of the AFIP, 18(6):1523-1546.
- Ozols, R. F..; Bookman, M.A.; Connolly, D.C.; Daly, M.B.; Godwin, A.K.; Schilder, R.J.; XU, X. and Hamiton, T.C. (2004). Focus on epithelial ovarian cancer. Cancer cell, vol.5:19-24.
- Parte, S.; Virant-Klun, I.; Patankar, M.; Batra, S. K.; Straughn, A.; Kakar, S. S. (2019). PTTG1: a unique regulator of stem/cancer stem cells in the ovary and ovarian cancer. STEM CELL Rev. Rep., 15(6), 866-879
- Pasieka,Z.;Stepien,H.;Komorowski,J.;Kolomeski,K.;Kuzdak,K.(2003).Evulation of the levels of bfgf,VEGF,SICAM-1,and VCAM-1 in serum of pation with thyroid cancer. In Molecular staging of cancer.pp189-194.
- Peters, K. G.; Marie, J.; Wilson, E.; Ives, H. E.; Escobedo, J.; Del Rosario, M.; and Williams, L. T. (1992). Point mutation of an FGF receptor abolishes phosphatidylinositol turnover and Ca2+ flux but not mitogenesis. Nature, 358(6388), 678-681.sited by Yun, Y. R.; Won, J. E.; Jeon, E.; Lee, S.; Kang, W.; Jo, H.and Kim, H. W. (2010). Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. J. Tissue Eng., 1(1), 218142.
- Pectasides, D.; pectasides, E,; Pyrri, A. and Economo poulos, T. (2006). Treatment issues in clear cell carcinoma of the ovary: a different entity?. The oncologist., 11: 1059-1094.
- Pieterse, Z.; Amaya- Padilla, M.A..; Singomat, T.; Binju, M.; Majid, B.D. and Kaur, P. (2019). Ovarain Cancer stem cells and their role in drug resistance. Int. J. Biochem. cell Biol., 106: 117-126.

- Prat, J. (2012). New insights into ovarian cancer pathology. Annals of oncology, 23: X111-X117.
- Proudovsky,I,;Kumer,T.K,;Sterling,S.and Neivadt,D.(2013).protein-phospholipid interactions in nonclassical protein secretion;problem and methods of study,Int. J. Mol. Sic.,14(2),373403772.
- Razi, S.; Ghoncheh, M.; Mohammadian- Hafshejani, A.; Aziznejhad, H.; Mohammadian, M. ; Salehiniya, H. (2016). The incidence and mortality of ovarian cancer and their relationship with the human development index in asia. e CANCER SCI., 10: 628Dol.
- Reigstad, M. M.; Storeng, R.; Myklebust, T. Å.; Oldereid, N. B.; Omland, A. K.; Robsahm, T. E.; Larsen, I. K. (2017). Cancer risk in women treated with fertility drugs according to parity status—a registry-based cohort study. Cancer Epidemiol. Prev. Biomarkers, 26(6), 953-962.
- Risch, H.A. (1998). Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer with a hypothesis concerning the role of undrogens and progesterone. J. Natl. cancer Inst., vol.90 (23): 1774-1786.
- Roett, M. A., and Evans, P. (2009). Ovarian cancer: an overview. American family physician, 80(6), 609-616.
- Rosen, D. G.; Zhang, Z.; Sham, W. and Liu, J. (2010). Morphological and molecular basis of ovarian serous carcinoma. J. Biomed. Res., 24(4): 237-263.
- Študent, V.; Andrýs, C.;Souček, O.; Špaček, J.; Tošner, J.; Sedláková, I. (2018). Importance of basal fibroblast growth factor levels in patients with ovarian tumor. Ceska Gynekol., 83(3), 169-176.

- Sadler,T.W.;Sadler-Remond,S.L.;Tosney,K.;Bvyne,J.and Imseis,H.(2015).Langmans medical emberyology.13th ed.Wolters Kluwer Health.Hongkong:X+409p.
- Sezer, O.; Jakob, C.; Eucker, J.; Niemöller, K.; Gatz, F.; Wernecke, K. D.; Possinger, K. (2001). Serum levels of the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and hepatocyte growth factor (HGF) in multiple myeloma. European J. Haematol., 66(2), 83-88.
- Sharma, I. and Chaliha, T. (2014). Histopathological patterns of germ cell tumors of ovary in a tertiary level hospital. Int. J. Pharm. Sci. Invent., 14-24.
- Shuk-Mei, H. (2003). Estrogen, progestron and epithelial ovarian cancer. Repro. Biol. Endocinol., 1:8p.
- Song, S.; Wientjes, M. G.; Gan, Y.; Au, J. L. S. (2000). Fibroblast growth factors: an epigenetic mechanism of broad spectrum resistance to anticancer drugs. Proc. Natl .Acad. Sci., 97(15), 8658-8663.cited by Liu, M., & Xing, L. Q. (2017). Basic fibroblast growth factor as a potential biomarker for diagnosing malignant tumor metastasis in women. Oncolo. Lett., *14*(2), 1561-1567.
- Soong, T.R.; Kolin, D. L.; Teschan, N.J. and Crum C.P. (2018). Back to the future? The fallopian tube, precursor escape and adualistic model of high- grade serous carcinogenesis. cancer, 10(12):24p.
- Soslow, R.A. (2008). Histologic Subtypes of ovarian carcinoma: An overview. Int. J. Gynecol.pathol.,27: 161-174.
- Stanescu, A. D.; Ples., L.; Edu, A.; Olaru, G.O.; Comanescu, A.C.; Poteca, A,G. and Comanescu, M.V. (2015). Rom. J. morphol. Embryol, 56(4): 1357-1363.

- Steringer,J.P.and Nickel,W.(2018).A direct gateway in to the exracellular spac:unconventional secretion of FGF2 through self-sustaind plasma membrane pors.SEMIN. CELL. DEV. BIOL.,83,3-7.

- Sturgeon, C. (2002). Practice guidelines for tumor markers use in the clinic. Clin. Chem., 48(8), pp. 1151-1159

- Sugiyama T.; Kamura, T.; Kigawa, J.; Terakawa, N.; Kikuchi, Y.; Kita, T.; Suzuki, M.; Sato, I. and Taguch, K.(2000). Clinical characteristics of clear cell carcinoma of the ovary .Cancer, 88: 13pp.

- Sundar, S.; Neal, R. D.; Kehoe, S. (2015). Diagnosis of ovarian cancer. Bmj, 351, h4443.

- Szubert, S.; Moszynski, R.; Michalak, S.; Nowicki, M.; Sajdak, S.; Szpurek, D. (2016). The associations between serum VEGF, bFGF and endoglin levels with microvessel density and expression of proangiogenic factors in malignant and benign ovarian tumors. Microvascular Res., 107, 91-96.

- Terada, T. (2012). Endometrioid adenocarcinoma of the ovary arising in atypical endometriosis. Int.J. clin.Exp. pathol., 5(9):924-927.

- Teven, C. M., Farina, E. M., Rivas, J., Reid, R. R. (2014). Fibroblast growth factor (FGF) signaling in development and skeletal diseases. Genes & diseases, *1*(2), 199-213.

- Torre.L.A.;Trabert,B.;Desantis,C.E.;Miller,K.D.;Samimi,G.;Runowicz,C.D.;Gaudet,M.M.;Jemal,A.and Siegel,R.;L.(2018).Ovarian cancer statistics2018.CA:Cancer J. Clin.,68(4),pp.284-296.

- Vargas, A. N. (2014). Natural history of ovarian cancer .e Cancer Med .Sin., 10p.

- Wesche,J.Haglund,K.and Hangsten,E.M.(2011).Fibroblast growth factors and their receptors in cancer.BIOCHEM. J.,437(2),pp.199-213.

- Wentzensen, N.; Poole, E. M.; Trabert, B.; White, E.; Arslan, A. A.; Patel, A. V.; Black, A. (2016). Ovarian cancer risk factors by histologic subtype: an analysis from the ovarian cancer cohort consortium. J. Clin. Oncol., 34(24), 2888.
- Win, T.T.; Mohamed, N.M.; Saung, Ma, and Ismail, M. (2016). Bilateral ovarian clear cell carcinoma in 17 year longstanding history of bilateral ovarian endometriosis .Iran J. pathol., 11(5): 475-482.
- World health organization, regional office for the eastern Mediterranean. (2013). Regional meeting on cancer control and research priorities. Doha, Qatar, 22pp.
- World ovarian cancer coalition (2018). The world ovarian cancer coalition atlas, global trends in incidence, mortality and surviaval.
- Yancik, R. (1993). Ovarian cancer: age contrasts in incidence, histology, disease stage at diagnosis, and mortality. Cancer, 71(S2), 517-523.
- Yin, B.W; and Lioyd, K.O. (2001). Molecular cloning of the Xa125 ovarian Cancer antigen identification as a new Mucin, Mucin 16. Journal of Biological chemistry, 27(29), pp.27371-27375.
- Young, R.H.(2005). Sex cord-stromal tumors of the ovary and testis: their similarities and differences with consideration of selected problems. Mo. Pathol., 18:581-598.
- Zhang, Y.; Zhang, S.; Shang, H.; Pang, X.; Zhao, Y. (2009). Basic fibroblast growth factor upregulates adrenomedullin expression in ovarian epithelial carcinoma cells via JNK-AP-1 pathway. Regulatory peptides, 157(1-3), 44-50.

- Zhang. W.; Wei, L.; Li,L.; Yang, B.; Kong, B.; Yao, G.; Zheng,W. (2015). Ovarian serous carcinogenesis from tubal secretory cells. Histol. Histopathol.,30:1295-1302.

- Zhao, S. J.; Liu, J. Y.; Ren, F. R.; Feng, Y. J. (2005). Expression of glucose transporter-1 and its correlation with basic fibroblast growth factor and proliferating cell nuclear antigen in epithelial ovarian neoplasm. Zhonghua fu chan ke za zhi, 40(4), 264-268.
- Zheng, R. and Heller, D.S. (2019). Borderline Brenner tumor: A review of the literature.Arch.patholLab.Med.,143(10),pp.1278-1

الملاحق

ملحق رقم (١)

استمارة المعلومات الخاصة بالمرضى

الاسم : **العمر:**

قبل العملية **نعم** **كلا** **تشخيص الجديد**

بعد العملية **نعم** **كلا**

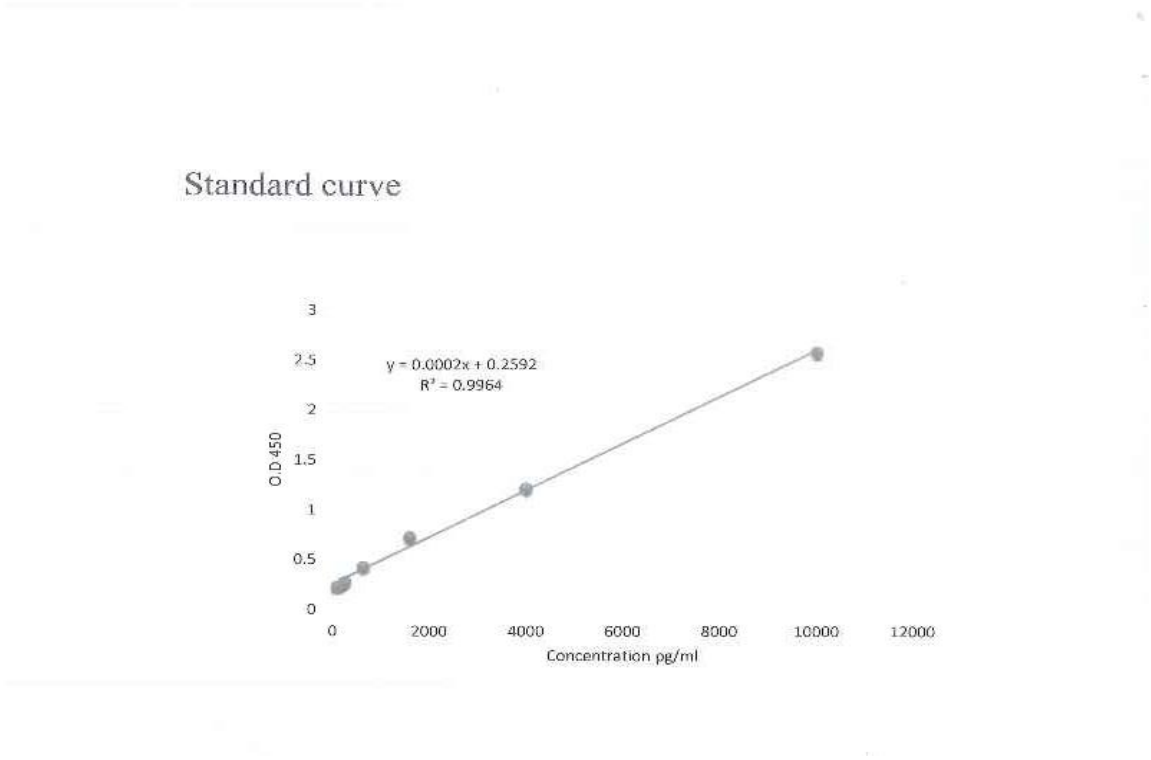
قبل العلاج الكيميائي **نعم** **كلا**

بعد العلاج الكيميائي **نعم** **كلا** **عدد الجرع**

صورة للزرع النسجي:

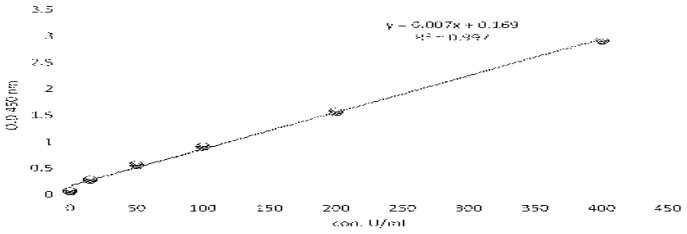
تاريخ العائلي للمرض **نعم** **كلا**

ملحق رقم(٢)



المنحى القياسي لـ bFGF

ملحق رقم(٣)



المنحنى القياسي لـ CA125

ملحق رقم(٤)

استمارة التطوع والموافقات الأخلاقية

استمارة الموافقة على المشاركة بالبحث

تحية طيبة.....سيدي مدعوة للمشاركة ببحث علمي سريري في مستشفى الاورام التعليمي و مستشفى بغداد التعليمي في موضوع (ovarian cancer سرطان المبيض) يرجى أن تأخذي الوقت المناسب لقراءة المعلومات الآتية بتأنٍ قبل أن تقرري إذا ما كنت راغبة بالمشاركة أم لا. وبإمكانك طلب مزيداً من الإيضاحات أو المعلومات الإضافية عن أي أمر مذكور بالاستمارة أو عن الدراسة من طبيبك.

اسم الباحثة/ طالبة ماجستير هبة ناظم كاظم/كلية العلوم –قسم علوم الحياة

عنوان البحث: الكشف عن علاقة عامل نمو الارومة الليفية– القاعدي bFGF بتطور سرطان المبيض اعتمادا على الوسائل المناعية

مكان إجراء البحث/ مستشفى الاورام التعليمي – مستشفى بغداد التعليمي/دائرة مدينة الطب

هدف البحث:

١– تحديد مستوى bFGF في مصل النساء المصابات سرطان المبيض

٢– مقارنة مستوى bFGF و CA125 في الكشف عن سرطان المبيض

٣– قياس مستوى bFGF في النسج المرضية

متطلبات البحث :

١–قياس مستوى bFGF في عينة الدم الوريدي

٢– استمارة استبيان

٣– نتائج الزرع النسجي الخاصة بالمريضة

وفي حال موافقتك على المشاركة في هذه الدراسة سيبقى أسمك قيد الكتمان. ولا يسمح لأي شخص "ما لم ينص عليه القانون" حق الاطلاع على الملف الطبي الخاص بك باستثناء الطبيب

المسؤول عن الدراسة ومعاونيه ولجان الأخلاق المهنية المستقلة. وإذا حصل أي عارض سلبي من جراء المشاركة لن يكون هناك أي تعويض مالي إذا لم يذكر في البحث.

وثيقة الموافقة التحريرية للباحث

لقد أوضحت للمشاركة ( ) بالتفصيل البحث وطبيعته ومجرياته وفوائده المحتملة وسلبياته المحتملة أيضاً. وأجبت عن كل استفساراته وأسئلته بوضوح على أفضل ما استطيع. وسأعلم المشارك بأي تغييرات في مجريات البحث أو فوائده أو سلبياته حال حصولها في أثناء البحث.

أسم الباحث هبة ناظم كاظم التوقيع التاريخ / /

نموذج الموافقة التحريرية للمشارك

لقد اطلعت على استمارة الموافقة وأدركت مضمونها وتمت الإجابة عن جميع الأسئلة التي تجول في ذهني. وبناءً عليه فأني حرة ومختارة أوافق على المشاركة بالبحث. وفهمت أن الباحثة (هبة ناظم كاظم) وزملاؤه ومساعديه سيكونون مستعدين للإجابة عن أسئلتي المستقبلية. وباستطاعتي الاتصال بهم على رقم الهاتف (٠٧٧٣٧٤٠٠٢٤٠ طالبة الماجستير هبة ناظم كاظم). وإذا شعرت لاحقاً أن الأجوبة تحتاج إلى مزيد من الإيضاح فسوف اتصل بأحد أعضاء اللجنة الأخلاقية بالهاتف (٠٧٧٠٧٦٥٤٦٧٠ د مثنى عبد القادر المهداوي/ قسم علوم الحياة– كلية العلوم). كما أعلم تماماً بأنني حرة في الانسحاب من هذا البحث متى شئت ولو بعد الموافقة التحريرية ومصادقتها من دون أن يؤثر ذلك على العناية الطبية المقدمة لي. وسيزودني الباحث بنسخة من هذه الموافقة الخطية.

أسم المشارك التوقيع التاريخ

/ /

موافقة المشاركة بالاستبيان:

بعد أن قام الباحث (طالبة ماجستير هبة ناظم كاظم/كلية العلوم –قسم علوم الحياة) بشرح مشروع البحث بتفصيل وأجاب عن كل استفساراتي المتعلقة بمشاركتي بالبحث: (الكشف عن علاقة عامل النمو الارومة الليفية– القاعدي bFGF بتطور سرطان المبيض اعتمادا على الوسائل المناعية)

وأطلعني الباحث عن فوائد بحثه وأهميته العلمية والعملية. كما أوضح بأن مشاركتي فيه تطوع مني وبمحض إرادتي وأن باستطاعتي رَفض المُشاركَة كما أن بإمكاني سَحب مشارَكتي من الدِراسة متى شئت ولأي سبب أو أن لا أجيب على أي سؤال لا ارغب في إجابته، كما تم إعلامي بأن مشاركتي بالبحث لن تحملني أي نفقات أو مسائلة من شأنها الضرر بمهنتي أو شخصي. وإن المعلومات الناتجة عن مشاركتي سوف تعامل بسرية تامة ولن يطلّع عليها أي شخص غير معني بالبحث وأن هذه المعلومات ونتائجها هي للأغراض العلمية فقط ولن تكون هناك أية إشارة إلى شخصي أو عائلتي في أي منشور عن هذه الدراسة.

ولأجل هذا فاني أصادق على مشاركتي في هذا البحث

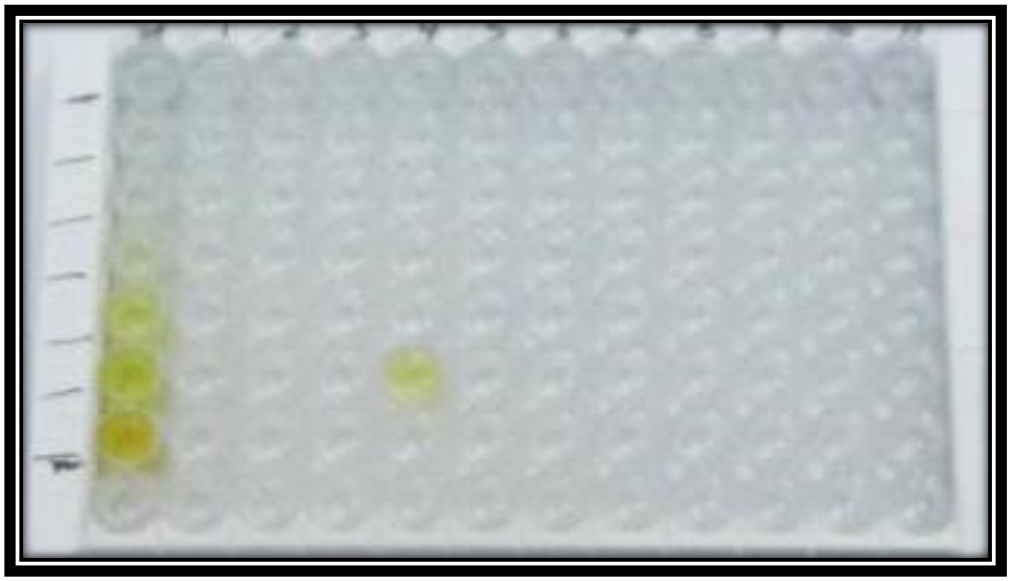
أسم المشارك

توقيع المشارك ..... التاريخ / /

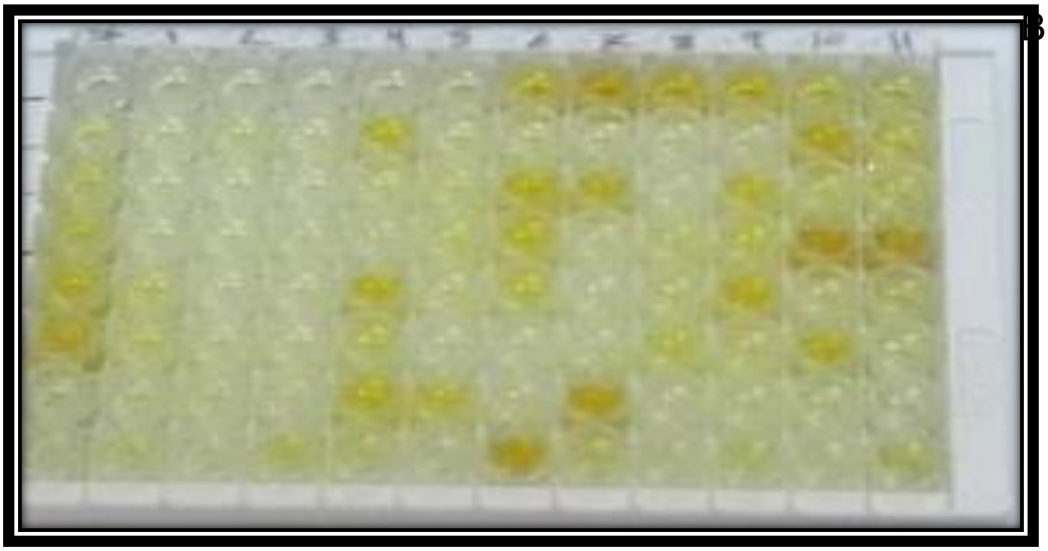
توقيع الباحث

..... التاريخ / /

ملحق رقم (٥)

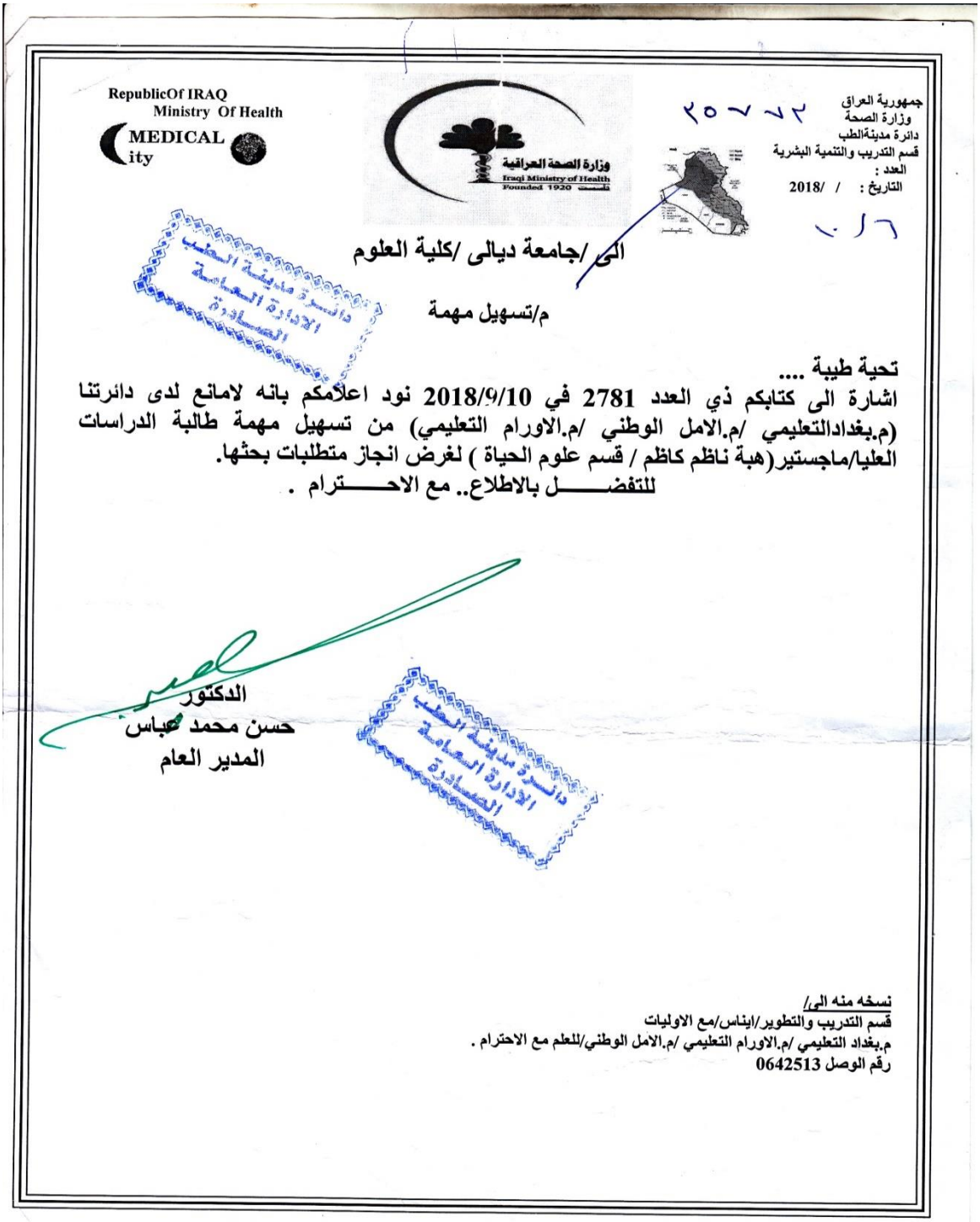


A–الصفيحة الخاصة بتقدير مستوى عامل نمو الارومة الليفة –القاعدي bFGF بتقنية ELISA بعد اضافة العينات القياسية والسيطرة وعينات الاكياس المبيضية وعينات مريضات سرطان المبيض.



B- الصفيحة الخاصة بتقدير مستوى CA125 بتقنية ELISA بعد اضافة للعينات القياسية والسيطرة وعينات الاكياس المبيضية وعينات مريضات سرطان المبيض

ملحق رقم (٦): تسهيل مهمة\A



RepublicOf IRAQ
Ministry Of Health
MEDICAL City

وزارة الصحة العراقية
Iraqi Ministry of Health
Founded 1920

جمهورية العراق
وزارة الصحة
دائرة مدينةالطب
قسم التدريب والتنمية البشرية
العدد : ٢٥٧٧
التاريخ : / /2018

١٠/٦

الى /جامعة ديالى /كلية العلوم

م/تسهيل مهمة

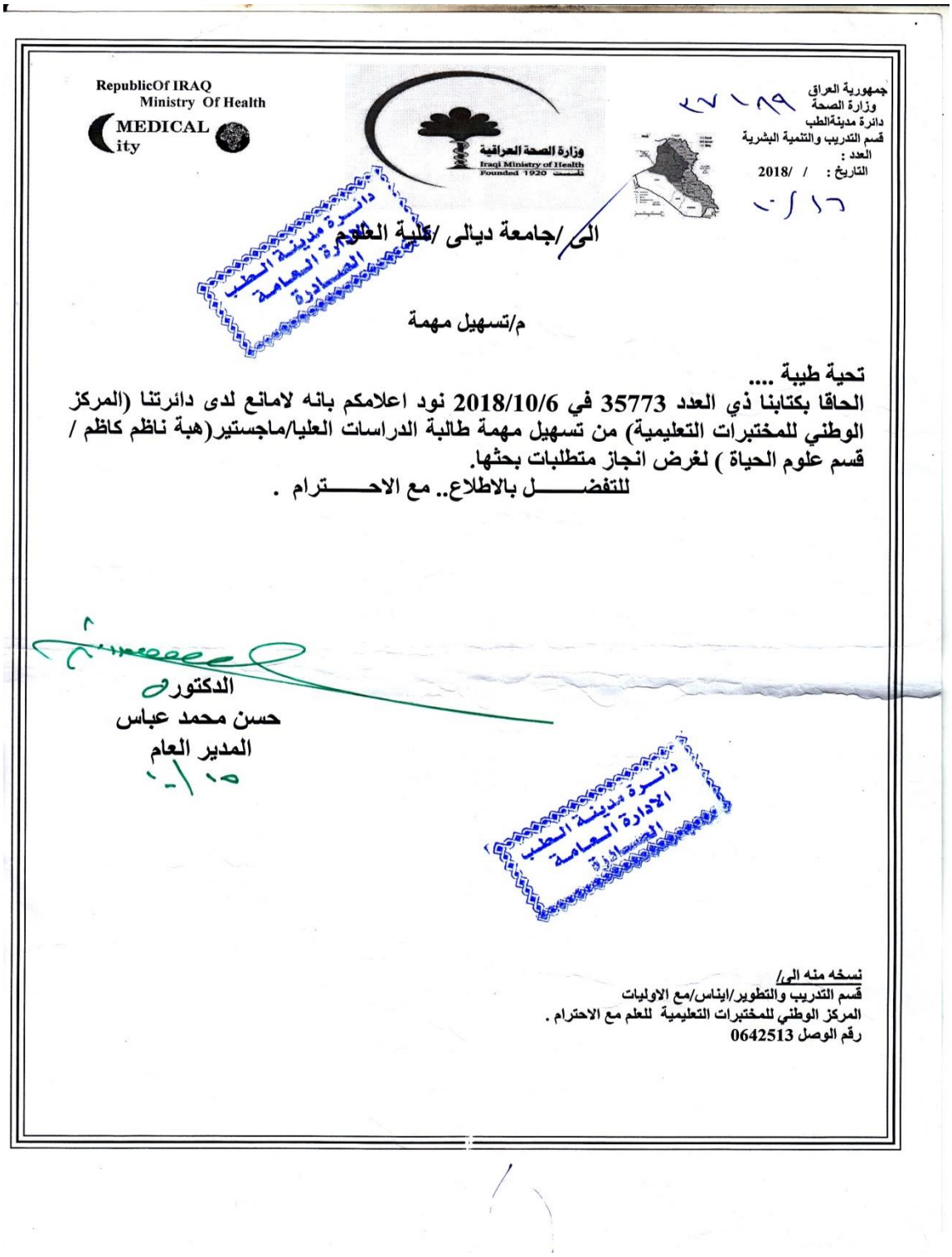
تحية طيبة ....
اشارة الى كتابكم ذي العدد 2781 في 2018/9/10 نود اعلامكم بانه لامانع لدى دائرتنا (م.بغدادالتعليمي /م.الامل الوطني /م.الاورام التعليمي) من تسهيل مهمة طالبة الدراسات العليا/ماجستير(هبة ناظم كاظم / قسم علوم الحياة) لغرض انجاز متطلبات بحثها.
للتفضـــــل بالاطلاع.. مع الاحـــــترام .

الدكتور
حسن محمد عباس
المدير العام

دائرة مدينة الطب
الادارة العامة
المساعدة

نسخه منه الى/
قسم التدريب والتطوير/اناس/مع الاوليات
م.بغداد التعليمي /م.الاورام التعليمي /م.الامل الوطني/للعلم مع الاحترام .
رقم الوصل 0642513

تسهيل مهمة\ B



RepublicOf IRAQ
Ministry Of Health
MEDICAL City

وزارة الصحة العراقية
Iraqi Ministry of Health
Founded 1920

جمهورية العراق
وزارة الصحة
دائرة مدينةالطب
قسم التدريب والتنمية البشرية
العدد :
التاريخ : / /2018

٢٧٠٨٩
١٦/١٠

دائرة مدينة الطب
الادارة العامة
المصادرة

الى /جامعة ديالى /كلية العلوم

م/تسهيل مهمة

تحية طيبة ....
الحاقا بكتابنا ذي العدد 35773 في 2018/10/6 نود اعلامكم بانه لامانع لدى دائرتنا (المركز الوطني للمختبرات التعليمية) من تسهيل مهمة طالبة الدراسات العليا/ماجستير(هبة ناظم كاظم / قسم علوم الحياة) لغرض انجاز متطلبات بحثها.
للتفضـــــل بالاطلاع.. مع الاحـــــترام .

الدكتور
حسن محمد عباس
المدير العام
١٥/١٠

دائرة مدينة الطب
الادارة العامة
المصادرة

نسخه منه الى/
قسم التدريب والتطوير/ايناس/مع الاوليات
المركز الوطني للمختبرات التعليمية للعلم مع الاحترام .
رقم الوصل 0642513

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
And Scientific Research
University of Diyala
College of Science

Detection The Relation Of Basic – Fibroblast Growth Factor In Progression Of Ovarian Cancer Based On Immunological Approaches

A Thesis

Submitted to Department of Biology, College of Science,

University of Diyala in Partial Fulfillment of the

Requirements for the Degree of Master of Science in Biology

By
Hiba Nadhom Kadhom
B.SC.Biology /University of Diyala/Colloge of science/2010-2011

Supervised by
Prof.Assistant
Dr. Anwar Abdul-Ameer Mohammed Karim

1442 A.H **IRAQ** **2020 A.D**

Summary

This study aimed to reveal basic-fibroblast growth factor bFGF relevant to ovarian cancer by Immunological approaches

About 110 blood samples were collected, including 39 samples for women with ovarian cancer, 15 samples for women after tumor eradication and chemotherapy, 16 samples for women diagnosed with ovarian cysts and 40 samples for healthy ostensibly women. As well as 40 samples of different ovarian tumors and cysts have been chosen for immunohistochemistry study.

The results showed that incidence rate of ovarian cancer increases in old women as high percentage has been observed in the age group ≥ 55 and represented by 40%. Whereas low percentage has been observed in the age group 25-34 and represented by 1.9%. The most common type of ovarian tumors was surface epithelial cell tumors and recorded 87% followed by sex cord- stromal tumors and recorded 7.30% and germ cells tumors that recorded 5.70% .

The results of Enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA) for basic fibroblast growth factor (bFGF) and Cancer antigen125 (CA125) The level of bFGF increases in the serum of women with ovarian cancer compared to the control group, ovarian cysts group, the group of women with ovarian cancer after chemotherapy, The indicator showed a high significant increases 145,20± 5,09 ,The level of bFGF decreases in the serum of women after chemotherapy 142,00±9,06 . This indicates that tumors cells play a crucial role in the production of bFGF. The mean CA125 level of women with ovarian cancer showed a high significant differences 68,01 ±2,60±2.60 compared to the control group, ovarian

cysts group, the group of women with ovarian cancer after chemotherapy. But the results demonstrated that bFGF is more specific than CA125.

The results of immunohistochemistry (ICH) study for bFGF expression

The surface epithelial tumors Some serous tumors showed high expression while, other sections were of weak(+) or medium (++) expression. Mucinous tumors exhibited either high (+++) or medium expression. Endometroid tumors showed weak or high expression. Only clear cells tumors among surface epithelial tumor gave a high expression. The differences among sex cord- stromal tumors were all sertoli cells tumors gave a high expression but granulosa cell tumors gave either a high or medium expression. Only Yolk Sac of germ cells tumors exhibited a high intensity of expression for bFGF. Hemorrhagic corpous lutens cyst exhibited a weak expression while Endometroid cyst gave medium expression for bFGF. Taking together the results of ELISA and ICH study indicate that bFGF may be a suitable biomarker for ovarian cancer diagnosis.