**الخلاصة**

استهدفت هذه الدراسة التحري عن فعالية البيتا كلوكان الذائب (المستخلص المحلي والتجاري) لخميرة الخبز*Saccharomyces cerevisiae*  على استحداث التأثير السمي (Cytotoxicity) للخلايا السرطانية في خارج ((in *vitro* وداخل in *vivo*)) الجسم الحي، ولتحقيق هدف الدراسة تمّ أولاً تحضير وتشخيص مستخلص البيتا كلوكان بشكله الذائب ومن ثم درست التأثيرات السمية للمستخلص المحضر والتجاري باستخدام مجموعة مؤشرات . تضمنت الكشف عن الجرعة المميتة الوسطية (LD50) و قياس انزيم الكبد (ALT) لمستخلص البيتا كلوكان الذائب المستخدم في التجربة مع دراسة التأثيرات المرضية الخارجية في الحيوان , دراسة الاستجابة المناعية الغير المتخصصة (المعدل المناعي) من خلال الكشف عن القابلية البلعمية , مع دراسة التأثيرات السمية الوراثية الخلوية للمستخلص المحلي والتجاري في خلايا نخاع العظم في الفئران. استخدام فحص الاليزا للكشف عن مستوى هرمون TGFß1 في الفئران؛ فضلا عن دراسة التأثيرات السمية المرضية النسيجية في أعضاء الحيوان المعاملSpleen, Kidney) ( Liver, والكشف عن جينات القتل المبرمج للخلايا (Bax) و (Bcl-2) من خلال استخدام تقنية التهجين في الموقع ( *in situ* hybridization) لمقاطع نسيج الطحال والورم السرطاني .

أظهر المستخلص المحلي والتجاري في الدراسة المختبرية تأثيرات تثبيطيه في النمو متعلقة بمقدار تركيزه ومدة تعريضه وإن اعلى تأثير مثبط للخلايا لوحظ عند التراكيز العالية(1000,500) ميكروغرام\مليليتر والتي بلغت (94,92)% و (85,87)% على التوالي بعد مرور48 ساعة من التعريض , في حين احدثت التراكيز المنخفضة (50,5) مايكروغرام\مليليتر انخفاضا في المعدل التثبيطي في نمو الخلية السرطانية AMN3 بعد مرور 24 و 72 ساعة , ما عدا في وقت 48 ساعة من التعريض ، اذ اعطى كلا من البيتا كلوكان للمستخلص المحلي والتجاري تأثيرات سمية للخلية السرطانية وبلغت (89,89)%، (91,90)%على التوالي، والتي أعطت فرقآ معنويا (P<0.05) وأن أعلى معدل لتثبيط نمو الخلايا ازداد خلال الفترة 24ساعة في خط الخلية AMN-3، في حين كانت هذه التراكيزالمدروسة محفزه على النمو للخلايا الجنينية الليفية الفأري الطبيعي (Ref) ، اجريت الدراسة الخلوية بشكل متزامن مع دراسة فعالية السمية الخلوية حيث لوحظ بأن التغيرات الخلوية اعتمدت على التراكيز المستخدمة , ففي التراكيز الواطئة (50,5) ميكروغرام/مل اظهرت تثبيط نمو شبيه بالرقع مع فقدان شكل الطبقة الأحادية مع علامات التنكس الخلوي لخلايا ANM3 . في حين أعطت التراكيز العالية (500,1000) ميكروغرام/مل علامات التحلل الخلوي الذي يكون اكثر شدة وقد تمثلت هذه التغيرات بفقدان الحدود الخارجية للخلايا ووجود اعداد متزايدة من الخلايا الميته وملاحظة كميه كبيرة من الحطام الخلوي . وتوصلت الدراسة إلى أن تأثير السمي للبيتا كلوكان الذائب يعتمد على نوع الخلايا المستخدمة ، ومقدار الجرعة ووقت التعريض .بالإضافة الى الطريقة المستخدمة في تحضير البيتا كلوكان الذائب .

النتائج التي توصلت إليها الدراسة لم تظهر اي تأثيرات سمية مميته (LD50) او تغيرات في مستوى إنزيم الكبد ALT في مجموعة الفئران المحقونة بالتراكيز (1000,800,600,400,200) مايكروغرام/مل المستخدمة في التجربة بعد 24ساعة (LD50 ) و21 يوم من حقن الحيوانات بالمستخلص المحلي الذائب . مثلت هذه الدراسة المحاولة الاولى لاستخدام مستخلص البيتا كلوكان الذائب للمستخلص المحلي والتجاري لخميرة الخبز كمادة مضادة للسرطان بعد اعطاء جرعه (1000) مايكروغرام/مل من كلا العلاجين لفئران تم غرسها بخلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN3) ، أظهرت النتائج بان كلا العلاجين يمتلك تأثيراً مثبطاً لنمو خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري والمتعلق بانخفاض في معدل حجم الورم النسبي RTV بمعدل (216، 241) ملم3 لمجموعة الفئران التي عولجت بعد (10) ايام من زرع خط الخلايا الورم فيها (G1) و (188، 212) ملم3 لمجموعة الفئران التي عولجت بعد (24) ساعة من زرع الورم (G3) لكلا العلاجين ، وعند المقارنة بمجموعة السيطرة (478، 389) ملم3 على التوالي، واعطت النتائج نسب في معدل تثبيط نمو الورم , TGI وبنسبة (54.4% ، 49.5%) لمجموعة G1، و (51.6 %، 45.5 %) لمجموعة G3 على التوالي لكلا العلاجين ، بينما لم تظهر مجموعة الفئران المعالجة G2 قبل غرسها اي تأثيرً مثبط لنمو خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري والمتعلق في معدل حجم الورم النسبي RTV و معدل تثبيط نمو الورم TGI

بينت نتائج الدراسة الخلوية الوراثية على خلايا نخاع العظام في الفئران المغروسة بعد معاملتها بالبيتا كلوكان الذائب (المستخلص المحلي والتجاري ) *لخميرة الخبز S. cerevisiae* لجميع المجاميع فروقات معنوية عند مستوى (P<0.05) في معامل الانقسام الخيطي ومعامل التحول الأرومي ,أذ اظهر كلا العلاجين زيادة في نسبة الانقسام الخيطي لخلايا نخاع العظام على حد سواء وفي جميع الفترات الزمنية مقارنة لمجموعة السيطرة .حفزت الجرعة المختارة للمستخلص المحلي والتجاري المدروسة (1000) مايكروغرام/مل فعالية الخلايا المناعية البلعميه، فقد أظهرت الزيادة الكبيرة في كفاءة الخلايا البلعمية في مجموعة الحيوانات G4 المعالجة بالمستخلص بلغت قيمتها (0٫08) اما العلاج التجاري فبلغ (0٫02) بالمقارنة مع فئران مجموعة السيطرة G6 (0٫006) .

 دلت النتائج على زيادة في المستوى TGFβ1في مجموعات الفئران السيطرة السليمة غير المعالجة G6 (4٫71نانوغرام/مل) ومقارنة مع مجموعة الفئران المغروسة والمعالجة بمحلول الايوني المتعادل G5( 3٫77نانوغرام/مل) مع اختلاف كبير جداً (p<0.01،P<0.05) ، اذ اظهرت النتائج ارتفاع في مستوى TGF-β1 من (2٫60نانوغرام/مل) في G2 الى (4٫35 نانوغرام/مل) في G1، G3 لكلا العلاجين .

أظهرت نتائج تحليل(ISH) لتحديد جينات Bcl2 , Bax للمقاطع النسيجية للورم المغروس والطحال قابلية البيتا كلوكان الذائب على الزيادة في معدل القتل المبرمج للخلايا المغروسة AMN-3في الفئران من خلال الزيادة (Up-regulation) في نسبة الجين المسؤول عن القتل المبرمج (Bax expression) وانخفاض (Down regulation) جين (Bcl-2 expression) اذ بلغت متوسط النسبة المئويةBax انخفاضا في معدل القتل المبرمج (11٫37(% مقارنتة مع Bcl-2 (71٫34%) ، لمجموعة الفئران المغروسة والمعالجة بمحلول الفوسفاتي المتعادل , بينما اظهرت مجاميع الفئران المغروسة والمعالجة ارتفاعا في نسبة Bax عند مجاميع الفئران (G1 و G2) لكلا العلاجين على حد سواء، اذ شكلت(43٫93%,53٫46%) ,مجموعة G1 و)54٫77%,52٫23%) لمجموعة الفئران G2 على التوالي، ان الاختلافات النسبية في جينات القتل المبرمج Bcl-2 مقارنتة مع Baxلمجاميع الفئران المعالجة ناجمة عن الارتفاع في نسبة Bax (54.7 , P<0.05%) مع انخفاض في نسبة جين Bcl-2 (30٫07%) اذ كانت نسبة Bcl-2 أقل بكثير من مجموعة الفئران السيطرة والمغروسة AMN3 اذ دلت نتائج الدراسة إلى أن البيتا كلوكان الذائب له تأثير علاجي جيد على قتل خلية الورم وإمكانيات الاستخدام السريري له كعامل للعلاج الدوائي . بينت الدراسة النسيجية المرضية بأن جرعة البيتا كلوكان الذائب المستخدمة للمستخلص المحلي والتجاري لا تمتلك تأثيراً سمياً في كل من الكبد والطحال والكلية تمثلت بحصول فرط تنسج و ارتشاح للخلايا الالتهابية (وحيدة النوى) في الطحال ، مسببا الزيادة في منطقة اللب الأبيض مع ظهور نزيف متني بالإضافة الى ارتشاح الخلايا المولدة للصفيحات الدموية وكذلك لوحظ التجمع البؤري للخلايا الالتهابية (وحيدة النوى) في كل من الكبد والكلية, أظهر الفحص النسيجي للأورام المعالجة بالمستخلص المحلي والتجاري لمجاميع الفئران المغروسة بالخلية السرطانية عن ذلك وجود مناطق نخر كبيرة مع قلة عدد الخلايا السرطانية فضلاً عن ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية مع وجود طبقة سميكة من النسيج الليفي، بينما اظهرت مجموعة السيطرة السالبة والمعاملة بمحلول الايوني المتعادل كتل صلبه من الخلايا السرطانية المفرطة التكاثر والقليلة التمايز مع احتوائها على التنخر المركزي القليل المساحة بالمقارنة مع المعالج فضلا عن احتوائه على القليل من الخلايا الالتهابية .