جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ميسان – كلية العلوم

قسم علوم الحياة

" دراســة خلوية مقارنة لمسحة الفم في الاشخاص المــدخنين وغير الـمــدخنين في ميسان "

بحث مقدم إلى مجلس كلية العلوم في جامعة ميسان كجزء من متطلبات الحصول على درجة البكالوريوس في علم الحياة

مقدم من :

رقــية فـيصل محــمد

تحت اشراف :

أ.د.علي خــلف

1446هـ

2025 م

الآية القرآنية

بسم الله الرحمن الرحيم

{ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ }

صدق الله العليّ العظيم

توصية الاستاذ المشرف

اشهد ان اعداد البحث الموسوم **(دراســة خلوية مقارنة لمسحة الفم في الاشخاص المــدخنين وغير الـمــدخنين في ميسان)** من قبل الطالبـة **(رقــية فــيصل محمد)** قد جرئ تحت اشرافي وهو جزء مـن متطـلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

الاسم : أ.د. علي خــلف

اللقب العلمي : أستاذ دكتور

العنوان : جامعة ميسان / كلية العلوم

التوقيع :

التاريخ : / / 2025

توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الئ التوصيات المقدمة من قبل **أ.د. علي خــلف** احيل هذا البحث الئ لجنة المناقشة لدراسته وبيان الرأي فيه

التوقيع :

رئيس القسم : أ.د. صالح حسن جازع

اللقب العلمي : أستاذ دكتور

التاريخ : / / 2025

الاهـــداء

إلى من كانت دعواتـــــــها سلاحًا لا يُقهر في طريقي

إلى من سهرت لتسهر راحتي وضحّت لتتحقق أحلامي

إلى نبع الحنان وسند الحياة وروح النجاح...

إلى أمي الحبيبة التي لولاها لما وصلتُ إلى هذا اليوم.

وإلى من كان لي أبًا ثانيًا وسندًا في كل منعطف،

إلى من شجعني حين يئست ووقف معي حين خذلني الجميع،

إلى من علّمني الرجولة قبل الحروف...

إلى أخي الكبير، الشمعة التي أنارت لي طريقي.

أهدي هذا العمل المتواضع... عرفانًا ومحبةً ووفاءً.

الشـــــكر والتـقدير

﴿ وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا ﴾ [طه: 114]

بهذه الآية الكريمة أبدأ شكرًا لله الذي وفقني وأعانني على إتمام هذا البحث.

أتوجه بخالص الشكر وعظيم التقدير إلى كل من ساندني في مسيرتي العلمية وأخص بالذكر أساتذتي الكرام الذين لم يبخلوا بعلمهم ونصحهم وخصوصا الدكتور الاستاذ علي خلف فكانوا نعم السند والدعم.

كما أتقدم بجزيل الامتنان إلى كل من وقف إلى جانبي خلال إعداد هذا البحث، ولكل من دعمني بكلمة أو وجهني برأي أو شجعني على الاستمرار.

جزاكم الله عني خير الجزاء.

الخـــلاصة

تناولت هذه الدراسة التغيرات الخلوية الناتجة عن التدخين من خلال تحليل عينات خلوية مأخوذة من الخد الداخلي لمجموعة من المدخنين ومقارنتها بعينات من غير المدخنين، باستخدام تقنيات الفحص المجهري والصبغات الروتينية في علم الأنسجة مثل الهيماتوكسيلين والإيوسين جُمعت العينات بطريقة مباشرة باستخدام فرشاة خلوية، ثم ثُبتت وصُبغت وفق البروتوكولات المعتمدة، ما أتاح إمكانية ملاحظة الفروق الدقيقة في الخلايا بين المجموعتين.

أظهرت النتائج وجود فروق واضحة في الشكل وعدد الخلايا بين المدخنين وغير المدخنين، حيث سُجّل انخفاض في عدد الخلايا القابلة للفصل في عينات المدخنين، إضافة إلى تغيرات ملحوظة في النواة والسيتوبلازم مثل زيادة نسبة النواة إلى السيتوبلازم وتكثف الصبغة النواة، وهي مؤشرات خلوية قد ترتبط بحالات قبل سرطانية. كما تبيّن أن التدخين يؤثر سلبًا على بنية الخلايا الفموية حتى لدى الأفراد في الأعمار الصغيرة، مما يرفع من أهمية الفحص المبكر.

توصي الدراسة بالاعتماد على الفحص الخلوي كأداة تشخيصية فعالة للكشف المبكر عن التغيرات الخلوية المرتبطة بالتدخين، خصوصًا لدى الفئات العمرية الشابة. كما تشدد على ضرورة رفع الوعي بمخاطر التدخين على صحة الفم، وضرورة إجراء فحوص دورية للمدخنين باستخدام تقنيات بسيطة مثل المسحة الفموية. وتشير النتائج إلى أهمية استخدام الفحص المجهري كخط دفاع أول في الكشف عن التغيرات المرضية المحتملة، مما يسهم في الوقاية والتدخل المبكر قبل تفاقم الحالة.

جدول المحتويات

ترقيم العناوين	المواضيع	رقم الصفحه
	الفـصل الاول	
1.1	المقدمة	2_1
	الفصل الثاني	
1	النسيج المخطي الفموي Oral Mucosa Tissue:	4
1.1	الظهارة الفموية	4_5
1.1.1	تجديد ظهارة الفـم	5
2.1.1	عدد الخلايا غير الكيراتينية	6
1.1.3	الخلايا الصباغيه	6
1.1.4	تحت المخاطية	6_7
2.1	وظائـــف الغشاء المخاطي الفموي	7
1.2.1	وظيفه الحماية	7
2.2.1	الوظيفه الحسيه	8
3.2.1	الاهميه السريريه	8
2	التغيرات الخلوية في الغشاء المخاطي الفموي الناتجة عن التدخين	9
1.2	التغيرات النووية	10
2.2	نسبة النواة إلى السيتوبلازم	11
3.2	فرط التقرن والتصبغات	11
4.2	خلل التنسج	12
5.2	تراجع المناعة الموضعية	13
6.2	الأدلة السريرية والتحاليل الخلوية	14
3	البصمة الفموية والتدخين	15
1.3	التغيرات الخلوية في البصمة الفموية نتيجة التدخين	15
2.3	تاثيرات التدخين على الجهاز المناعي الفموي	15
3.3	المـسحة الفموية كأداة تشخيصية للتغيرات	16

	الخلوية	
4	التدخين	17
1.4	المقدمة	17
2.4	التركيب الكيميائي لدخان السجائر وتأثيراته الخلوية	18_19
3.4	تأثير التدخين على انقسام الخلايا ونشاط النواة الفموية	20_21
4.4	التأثيرات الوراثية والجينية للتدخين على خلايا الفم	22_23

الفصل الثالث

1.3	جمع العينات	25
2.3	تثبيت العينة	25
3.3	التـصبغ	25
4.3	الفحص المجهري	26

الفصل الرابع

1.4	النتائج	28_30
2.4	المناقشة	31_32

الفصل الخامس

1.5	الاستنتاجات	34
2.5	التوصيات	34_35

	المصادر	38_36

جدول الصور

رقم الصورة	العنوان	رقم الصفحة
1	تصبغات فموية نتيجة التدخين	12
2	صورة مجهرية تظهر خلل التنسج في خلايا الغشاء المخاطي الفموي	13
3	تـــأثير التدخين علئ الخلايا المناعية في الغشاء الفموي	14
4	صورة تظهر عملية أخذ عينة البصمة الفموية وتحليلها تحت المجه	16
5	المركبات السامة في دخان السجائر وتأثيراتها الخلوية	19
6	مجهرية توضح الفروقات في حجم وشكل النواة في خلايا فموية من مدخنين مقارنة بغير المدخنين	21
7	ظهر نواة خلوية غير طبيعية كدليل على وجود ضرر كروموسومي ناتج عن التدخين	23
8	مسحه الخلايا من الغـــشاء المخاطي الفموي في مدخنين صـــيغه هيماتوكسلي وايوسين ع القوه X40	28
9	مسحه الخلايا من الغـــشاء المخاطي الفموي في غير مدخنين صـــيغه هيماتوكسلي وايوسين ع القوه X40	30

الــفصل الاول
الـــمقدمة
Introduction

الــمـقدمـــة :

يُــعد التدخين من أخطر العوامل السلبية التي تؤثر على صحة الإنسان بشكل عام، وعلى صحة الفم خاصة. فقد أصبح التدخين – سواء كان تبغًا تقليديًا أو إلكترونيًا – ظاهرة شائعة في المجتمعات المختلفة، مصحوبًا بزيادة في المشكلات الصحية المرتبطة به، مما يجعل دراسته من الجوانب المهمة في مجالات طب الأسنان وعلوم الحياة.

إن للتجويف الفموي دورًا محوريًا في عدة وظائف حيوية منها المضغ، والبلع، والنطق، والحماية المناعية إلا أن التعرض المستمر لمكونات التبغ – ومنها النيكوتين والقطران والمواد المسرطنة – يُحدث تأثيرات ضارة على خلايا الفم والأنسجة الداعمة، قد تبدأ بتغير لون الأسنان واللثة وتنتهي بسرطانات الفم الخطيرة. وتشير الدراسات إلى أن المدخنين أكثر عرضة للإصابة بأمراض اللثة، والتهاب اللثة، وتسوس الأسنان، كما أن معدلات الشفاء بعد الجراحة الفموية لديهم أبطأ (Reibel, 2003).

تُعد الإصابة بأمراض دواعم السن (periodontal diseases) من أبرز التأثيرات الفموية للتدخين، حيث يساهم التدخين في تقليل تدفق الدم إلى اللثة، مما يقلل من وصول الأوكسجين والعناصر الغذائية الضرورية لصحة الأنسجة، ويؤدي إلى ضعف الاستجابة المناعية الموضعية، وبالتالي زيادة احتمالية التلف النسيجي والعدوى. ووفقًا لجمعية طب الأسنان الأمريكية (ADA)، فإن المدخنين معرضون للإصابة بأمراض اللثة بنسبة تفوق غير المدخنين بأكثر من ثلاثة أضعاف (.Bergström, 2004; ADA, n.d).

إضافة إلى ذلك، كشفت البحوث الحديثة عن العلاقة بين التدخين وزيادة خطر الإصابة بسرطان الفم، خاصة في مناطق مثل اللسان، أرضية الفم، والشفاه. وقد أشارت دراسة نُشرت في مجلة Oral Oncology إلى أن التبغ مسؤول عن نحو 80% من حالات سرطان الفم في العالم، وأن مفعوله يصبح أكثر خطورة عند اقترانه بتعاطي الكحول (Blot et al., 1988).

ولم تقتصر أضرار التدخين على التبغ التقليدي، بل ظهرت في السنوات الأخيرة منتجات بديلة مثل السجائر الإلكترونية، التي رُوّج لها على أنها "أقل ضررًا". إلا أن الأدلة العلمية تُشير إلى أن البخار الناتج عنها يحتوي على مواد سامة ومهيجة للأغشية المخاطية الفموية، وقد يسبب تهيج اللثة، وجفاف الفم، وتغيرات في البكتيريا الفموية الطبيعية (Walley et al., 2019).

انطلاقًا مما سبق، تتضح الأهمية البالغة لتوعية الأفراد – لاسيما فئة الشباب – بمخاطر التدخين على الصحة، والعمل على تكثيف الجهود البحثية والوقائية للحد من هذه الظاهرة المتفاقمة. كما تبرز الحاجة إلى تدخلات صحية شاملة تشمل التثقيف الصحي، وتوفير بدائل آمنة، وتعزيز برامج الإقلاع عن التدخين.

الفـــــــصل الـثاني

استـــــــــــعراض المــراجع

Review of References

1. النسيج المخطي الفموي Oral Mucosa Tissue:

الغشاء المخاطي الذي يبطن الهياكل داخل حدود تجويف الفم يعُرف باسم الغشاء المخاطي الفموي . وهو غشاء من الأنسجة الرخوة الرطبة يمتد من التقاطع بين الحافة القرمزية للشفتين والغشاء المخاطي الشفوي من الأمام إلى طيات الحنك والبلعوم من الخلف .

من الناحية النسيجية، يتكون الغشاء المخاطي للفم من ثلاث طبقات، وهي ظهارة طبقية حرشفية سطحية، تعُرف باسمالظهارة الفموية ، والتي يعتمد سمكها ودرجة التقرن فيها على الموقع والمتطلبات الوظيفية [Groeger & Meyle, 2019].

يوجد أسفلها نسيج ضام أساسي يعُرف باسم الصفيحة المخصوصة، ونسيج ضام كثيف غير منتظم، تحت المخاطية، يوجد في أعمق مستوى.

هذا الأخير غائب في بعض مناطق تجويف الفم، حيث ترتبط الصفيحة المخصوصة مباشرة بالعظم أو العضلات يمكن تصنيف الغشاء المخاطي للفم إلى غشاء مخاطي مبطن، وغشاء مخاطي مضغ، وغشاء مخاطي متخصص، مع سمات نسيجية وإكلينيكية ووظيفية مميزة. تشمل مجموعة الوظائف التي يطورها الغشاء المخاطي للفم بشكل أساسي حماية الأنسجة الأساسية من المحفزات الميكانيكية والكيميائية والبيولوجية، وإفراز المواد الأساسية، ووظيفة حسية تسمح بإدراك درجة الحرارة واللمس والألم والتذوق

1.1 الظهارة الفموية :

يغطي ظهارة طبقية حرشفية السطح بالكامل للغشاء المخاطي للفم وهو نسيج شديد التنظيم، لا وعائي، وشبه منفذ، ويختلف سمكه ودرجة التقرن فيه وفقاً لموقعه في تجويف الفم والمتطلبات الوظيفية والميكانيكية للمنطقة. وترتبط واجهة متشابكة الظهارة والطبقة الأعمق من الظهارة .وترتبط النتوءات المتموجة للطبقة الأعمق من الظهارة، والمعروفة باسم أوتاد الشبكة بالنتوءات الحليمية الأساسية للطبقة الأعمق من الظهارة ويوجد بين هذين النسيجين غشاء قاعدي غير خلوي يرتبط به الظهارة بإحكام. ويوفر الغشاء القاعدي الدعم للظهارة ويربطها بالنسيج الضام. وفي المجهر الضوئي، يُرى كخط فاصل بين الظهارة والنسيج الضام للطبقة الأعمق من الظهارة. ومع ذلك، فمن الأفضل ملاحظة ذلك باستخدام المجهر الإلكتروني الذي يظهر بوضوح الصفيحة القاعدية، والتي تنقسم بدورها إلى الصفيحة اللامعة والصفيحة الكثيفة.

يمكن تصنيف الغشاء المخاطي للفم إلى ثلاثة أنواع تختلف نسيجياً وسريرياً ووظيفياً. يُطلق على الغشاء المخاطي الذي يبطن الهياكل المتحركة في الفم اسم الغشاء المبطن أو الغشاء المخاطي المتحرك ، والذي يوجد على الحنك الرخو والخدين والشفتين والغشاء المخاطي السنخي وأرضية الفم والقبو الدهليزي. نوع الظهارة التي تغطي الغشاء المخاطي المبطن هو ظهارة حرشفية طبقية غير متقرنة [Groeger & Meyle, 2019].

يعُرف الغشاء المخاطي الصلب المرتبط بإحكام بالعظم الأساسي في اللثة الملتصقة والحنك الصلب باسم الغشاء المخاطي الماضغ نوع الظهارة التي تغطي هذه الأسطح هو ظهارة حرشفية طبقية متقرنة أو شبه متقرنة مما يوفر للغشاء المخاطي الماضغ قدرته على دعم الضغط الذي

يتعرض له أثناء المضغ بشكل أفضل أخيرًا يوجد غشاء مخاطي متخصص على ظهر اللسان يظهر ظهارة طبقية حرشفية يمكن أن تكون متقرنة أو غير متقرنة ويحصل على هذا الاسم بسبب ميزته الفريدة المتمثلة في وجود أنواع مختلفة من الحليمات اللسانية وبراعم التذوق التي تسمح بإدراك التذوق. ولأن ظهر اللسان يشارك بنشاط في المضغ، فإن هذا الغشاء المخاطي يصُنف أحياناً أيضًا على أنه غشاء مخاطي مضغ.

تتكون الظهارة الفموية من أربع طبقات في الغشاء المخاطي الفموي المتقرن، وهو ما يحدث في الغشاء المخاطي الماضغ.

بدءًا من الطبقة العميقة وجدنا الطبقة القاعدية تليها الطبقة الشوكية والطبقة الحبيبية والطبقة القرنية عندما تكون الظهارة غير متقرنة كما هو الحال في الغشاء المخاطي المبطن، فوق الطبقة القاعدية، توجد طبقة خيطية وطبقة منتفخة[Groeger & Meyle, 2019].

علاوة على ذلك، تفتقر الظهارة غير المتقرنة، التي تظهر على الغشاء المخاطي المبطن إلى الطبقة الحبيبية ومن المعروف أن الطبقة الشوكية أرق بشكل عام [Sharpe et al., 2013]. ترتبط الخلايا التي تشكل الظهارة ببعضها البعض بواسطة الديسموسومات وتصبح مسطحة تدريجياً من الطبقة القاعدية إلى الأعلى إلى الطبقة القرنية، حيث اكتسبت مظهرًا متقشرًا أو حرشفياً. تعُرف الخلايا الظهارية الحرشفية بالخلايا الكيراتينية لأنها تتكون في الغالب من الكيراتينات السيتوكيميائية.

تتميز الطبقة القاعدية بطبقة من الخلايا المكعبة أو العمودية التي تقع فوق الغشاء القاعدي والتي ترتبط بها الهيميدسموسومات تشتهر هذه الخلايا بقدرتها على الانقسام الفتيلي. فوق الطبقة القاعدية مباشرة، تشكل عدة طبقات من الخلايا الأكبر حجمًا والتي تسمى الخلايا الشائكة، بسبب شكلها، الطبقة الشوكية. تأتي الطبقة الحبيبية؛ بعد ذلك، تحتوي هذه الخلايا على حبيبات كيراتوهيالين سيتوبلازمية صغيرة ملطخة بقوة بالهيماتوكسيلين أخيرًا، الطبقة الأكثر سطحية، الطبقة السطحية أو الطبقة القرنية، هي طبقة متقرنة تتكون من خلايا مسطحة للغاية يصورها عدم وجود نواة وصبغة وردية بالإيوزين [Sharpe et al., 2013].

1.1.1 تجديد ظهارة الفـم:

يتم استبدال الخلايا الظهارية الفموية بشكل متكرر عن طريق انقسام الخلايا، كل 14 إلى 21 يومًا تقريباً. وذلك لأن تجويف الفم يتعرض باستمرار لمتطلبات وظيفية عالية، مما يستلزم دوراناً متكررًا. تبدأ عملية التجديد في الطبقة القاعدية، والتي تتكون بشكل أساسي من الخلايا الانقسامية التي تخضع للتكاثر أولاً ثم عملية التمايز والهجرة [وانج إس إس وآخرون، 2019].

ومن المعروف أن دوران الخلايا يكون أسرع في الغشاء المخاطي المتحرك منه في الغشاء الماضغ. للحفاظ على توازن الظهارة، هناك حاجة للتمايز والتقشير على السطح الذي يوازن انقسام الخلايا. عندما يتغير التوازن الداخلي بسبب عوامل مثل الشيخوخة أو الظروف المرضية، فقد يؤدي ذلك إلى ظهارة تضخمية أو ضامرة

2.1.1 عدد الخلايا غير الكيراتينية :

بالإضافة إلى الخلايا الكيراتينية، توجد خلايا متخصصة أخرى بشكل دائم داخل الظهارة الفموية، والتي يشار إليها بالخلايا غير الكيراتينية، بما في ذلك الخلايا الصبغية وخلايا لانغرها وخلايا ميركل. علاوة على ذلك، قد تهاجر خلايا التهابية مختلفة أخرى بشكل مؤقت إلى الظهارة الفموية

3.1.1 الخلايا الصباغية :

الخلايا الصبغية هي خلايا شجرية مطولة تنتج الميلانين وتقع في الطبقة القاعدية من ظهارة الفم والتي تنشأ من القمة العصبية ثم تهاجر إلى الجلد والغشاء المخاطي للفم حيث تقيم[توماس & إريكسون، 2008].

تحتوي هذه الخلايا على البروتينات اللازمة لتخليق الميلانين ولعملية نضوج الميلانوزومات تصنع الخلايا الصبغية الميلانين على هيئة هياكل تعُرف باسم الميلانوزومات والتي تنتقل بعد ذلك إلى سيتوبلازم الخلايا الظهارية المجاورة بفضل نتوءاتها الشجيرية الطويلة التي تمتد بين الخلايا الكيراتينية. تتراوح نسبة الخلايا الصبغية إلى الخلايا الكيراتينية في الطبقة القاعدية من ظهارة الفم من 10:1 إلى 15:1 [توماس & إريكسون، 2008]. تحافظ الخلايا الجذعية الصباغية التي لا يزال مكانها في تجويف الفم غير معروف، على تعداد الخلايا الصباغية الناضجة بفضل قدرتها على التجدد والتمايز .

يمتلك جميع الأفراد نفس عدد الخلايا الصبغية في الغشاء المخاطي للفم والجلد يتم تحديد ألوان الجلد المختلفة وتصبغ الغشاء المخاطي للفم من خلال حجم وكمية الميلانوزومات ونوع الميلانين المخلوق، اليوميلانين أو الفيوميلانين يمكن ملاحظة حبيبات الميلانين وهي مجموعات من الميلانوزومات مجهرياً في الأنسجة ذات الصبغة الكثيفة الملطخة بالهيماتوكسيلين والإيوزين.

الوظيفة التي تؤديها الخلايا الصبغية في جسم الإنسان على الرغم من عدم فهمها تمامًا، من المعروف أنها إنتاج الميلانين الذي يساهم في تحديد لون الجلد والغشاء المخاطي والشعر والعينين. في الوقت نفسه، يحمي الميلانين هذه الأنسجة من التأثير الضار للأشعة فوق البنفسجية وجزيئات الأكسجين التفاعلية والجذور الحرة الموجودة في البيئة [Bearelly & Cheung، 2017]. تجدر الإشارة إلى أنه مع تقدم العمر، يرتفع عدد الخلايا الصبغية الفموية، وبالتالي هناك زيادة في مدى وكثافة التصبغات الفموية التي تعتبر فسيولوجية . يشُتبه في أن هذه الزيادة قد تكون ناتجة عن محفزات ميلانينية تراكمية محتملة مثل الحالات الالتهابية والأدوية والإصابات الوظيفية المتكررة والخفيفة أو دخان التبغ .

4.1.1 تحت المخاطية:

توجد تحت الصفيحة المخصوصة طبقة من الأنسجة الليفية الكولاجينية والمرنة تحتوي على أوعية دموية وأعصاب تعُرف باسم الغشاء المخاطي. ووفقاً للموقع، قد يحتوي الغشاء المخاطي على أنسجة دهنية وغدد لعابية صغيرة وأنسجة لمفاوية وعضلات. يوجد الغشاء المخاطي في جميع مناطق تجويف الفم باستثناء اللثة الملتصقة والحنك الصلب المغطى بغشاء مخاطي للمضغ،

حيث تكون طبقة الغشاء المخاطي غائبة، وتلتصق الصفيحة المخصوصة مباشرة بالعظم الأساسي، مكونة غشاء مخاطي .

قد توجد الغدد الدهنية غير الطبيعية، المعروفة باسم حبيبات فورديس على الطبقة تحت المخاطية من الغشاء المخاطي للفم في بعض المواقع وعلى الرغم من أنها كانت تعتبر دائمًا اختلافاً طبيعياً، فقد اقترحت الدراسات الحديثة أن الأشخاص الذين يعانون من زيادة مستويات الدهون لديهم عدد أكبر من حبيبات فورديس وبالتالي لا ينبغي تجاهل هذه النتيجة السريرية. توجد غالباً على الغشاء المخاطي للفم والغشاء المخاطي للشفتين. يقلل العمر والتدخين من كثافتها [Laugerette et al., 2007].

2.1 وظائـــف الغشاء المخاطي الفموي :

1.2.1 وظيفة الحماية :

تجويف الفم هو بيئة تتعرض باستمرار للمحفزات الميكانيكية والكيميائية والبيولوجية لأنشطتنا اليومية. يلعب الغشاء المخاطي للفم دورًا أساسياً في حماية الأنسجة الأساسية من القوى الميكانيكية التي تشارك في الوظيفة الطبيعية للمضغ التمدد والضغط والتآكل من نظام غذائي قاسي والمستضدات الخارجية والجزيئات الضارة من النظام الغذائي علاوة على ذلك، يتعرض الغشاء المخاطي للفم أيضًا للمواد المسرطنة الموجودة في الكحول والتبغ وجوز التنبول المستهلك في بعض المناطق. تعمل الظهارة الفموية كحاجز ضد هذه الضغوط الفسيولوجية والمسببة للأمراض. تعمل كحاجز فيزيائي ومناعي للاعتداءات الخارجية وتمنع اختراق البكتيريا الطبيعية لتجويف الفم والتي قد تسبب العدوى. تحقق الظهارة الفموية هذا من خلال تكوينها من طبقات متعددة من الخلايا الظهارية والوصلات الخلوية والحفاظ على الاستجابات المناعية للمستضدات بفضل وجود الخلايا الشجيرية (**DCs**) والخلايا التائية المساعدة (**Th17**).

إفرازات :

المادة الرئيسية التي يفرزها الغشاء المخاطي للفم هي اللعاب، والذي يتم إفرازه من خلال قنوات الغدد اللعابية الكبرى والصغرى. الغدد اللعابية الصغرى المنتشرة على نطاق واسع في تجويف الفم مدرجة في الغشاء المخاطي تحت المخاطي. ومع ذلك، فإن الغدد اللعابية الكبرى، والتي تعد المصدر الرئيسي للعاب، تقع خارج حدود الغشاء المخاطي للفم.

ومع ذلك، فإن قنواتها الإخراجية تفتح في تجويف الفم مما يساهم في الحفاظ على رطوبة الأنسجة. يمتلك الغشاء المخاطي للفم كمية أقل أهمية من الغدد الدهنية التي تم الإبلاغ عنها على الشفاه والشفتين والغشاء المخاطي للفم في غالبية السكان البالغين وقد توجد بشكل متقطع في الغشاء المخاطي السنخي. تفرز هذه الغدد مادة دهنية تعرف باسم الزهم، والتي لم يتم تحديد وظائفها بعد. ومع ذلك، تشير الدراسات الحديثة للزهم الجلدي إلى أنه قد يلعب دورًا في المناعة [Sharpe et al., 2013].

2.2.1 الوظيفة الحسية:

يتلقى تجويف الفم أعصابه الحسية من الفروع الثلاثة للعصب ثلاثي التوائم. توجد ثلاثة أنواع من النهايات الحسية بشكل رئيسي في الغشاء المخاطي للفم، تتكون من أقراص ميركل، وجسيمات مايسنر، ونهايات الأعصاب الحرة، والتي تسمح للغشاء المخاطي للفم بإدراك والاستجابة لمنبهات درجة الحرارة واللمس والألم علاوة على ذلك، فإنه يدرك أحاسيس التذوق للمالح والحلو والحامض والمر والأومامي على الرغم من أنه تم اقتراح مؤخرًا أنه قد يكون هناك أيضًا إحساس بتذوق الدهون توجد خلايا مستقبلات التذوق في الفم في ظهر اللسان والحنك الرخو. تحتوي الحنجرة والبلعوم والغشاء المخاطي للمريء العلوي أيضًا على هذه المستقبلات. الوظيفة الحسية لتجويف الفم ضرورية لتحديد الأشياء،

والتأثير على الإجراءات التي تتم أثناء المضغ، وبدء منعكس البلع. تسمح حاسة اللمس بتنسيق الحركات المطلوبة بواسطة اللسان والشفتين والحنك الرخو لإصدار الأصوات بشكل صحيح عند التحدث[آدامز، 1976] .

3.2.1 الأهمية السريريـــة:

يحتوي الغشاء المخاطي للفم على عدد كبير من الوظائف ذات الأهمية السريرية. فهو يعمل كحاجز جسدي ومناعي وقائي من المنبهات الخارجية ويحتضن غدًدًا لعابية صغيرة تفرز اللعاب للحفاظ على رطوبة الأنسجة، ويستشعر ويستجيب لمنبهات درجة الحرارة واللمس والألم. قد تؤثر أمراض متعددة على الغشاء المخاطي للفم وتضعف قدرته على تطوير هذه المهام. على سبيل المثال، يمكن أن يتسبب اختلال ظهارة الفم في حدوث آفات مخاطية فموية مختلفة مثل الحزاز المسطح الفموي والطلاوة الفموية. وقد تطورت سرطانات الفم، مثل سرطان الخلايا الحرشفية(OSCC) عندما ينكسر الحاجز الظهاري الفموي للغشاء المخاطي وتخضع الخلايا الكيراتينية للتمايز المعيب [وانج إس إس وآخرون، 2019].

علاوة على ذلك يؤدي تدمير حاجز اللثة الناجم عن خلل التوازن في ميكروبات الفم إلى جانب الالتهاب إلى أمراض اللثة تشمل آفات الغشاء المخاطي الفموي السطحي الشائعة الهربس الشفوي المتكرر، وداء المبيضات، والتهاب الفم القلاعي المتكرر، والاحمرار المهاجر، واللسان المشعر، والحزاز المسطح [Barrett & Scully، 1994]. ومن الجدير بالذكر أيضًا أن الغشاء المخاطي الفموي غير الطبيعي قد يكون أحد أعراض أمراض الغشاء المخاطي أو الجلد والعديد من الحالات الجهازية لذلك، فإن معرفة السمات النسيجية للغشاء المخاطي للفم أمر ضروري للتعرف على الحالات الحميدة والأورام الخبيثة المرضية

2. التغيرات الخلوية في الغشاء المخاطي الفموي الناتجة عن التدخين

Cytological Changes in the Oral Mucosa Due to Smoking

يُعد الغشـــــاء المخاطي للفم من أكثر الأنسجة عرضةً للتأثيرات المباشرة للمواد الكيميائية السامة والمسرطنة الموجودة في دخان التبغ، سواء كان تدخينًا نشطًا (***Active smoking***) أو سلبيًا (***Passive smoking)*** يحتوي دخان السجائر على أكثر من 7000 مادة كيميائية من بينها أكثر من (**69**) مادة معروفة بقدرتها على إحداث السرطان منها **البنزين، الفورمالدهيد، الزرنيخ، النتروزامينات، والهيدروكربونات الأروماتية** متعددة الحلقات [WHO, 2021]. وتنتقل هذه المركبات إلى الغشاء المخاطي الفموي عبر التلامس المباشر المتكرر لتؤدي إلى سلسلة من التغيرات الخلوية المتراكمة التي تبدأ بالتحولات التكيفية مثل (فرط التقرن) ثم تمر بمراحل تغيرات شاذة في النواة والسيتوبلازم وصولًا إلى التحول الخبيث في الخلايا الظهارية (***Malignant transformation***).

إن هذه التغيرات لا تتوقف عند الآثار الموضعية فقط بل تشير إلى خطر أشمل على الصحة العامة للفم كزيادة احتمال الإصابة بالتهاب اللثة المزمن، تراجع العظم السنخي ظهور آفات ما قبل سرطانية (***Precancerous lesions***) مثل الطلاوة البيضاء (***Leukoplakia***) والتقرحات المزمنة وأخيرًا تطور سرطان الخلايا الحرشفية الفموي (***Oral squamous cell carcinoma***) الذي يُعد أحد أخطر أنواع السرطان المرتبط بالتدخين [Warnakulasuriya, 2007].

تُظهر الدراسات الحديثة في علم الخلايا الفموية (***Oral Exfoliative Cytology)*** أن التغيرات المجهرية الناتجة عن التدخين تبدأ في الظهور حتى قبل أن يلاحظ الطبيب أي أعراض سريرية وهو ما يعزز من أهمية هذا العلم كأداة استباقية حاسمة لرصد التحولات الخلوية في مراحلها المبكرة بناءً عليه فإن تحليل هذه التغيرات يمثل أحد الأعمدة الأساسية لفهم آلية تأثير التدخين على النسيج الفموي وتقديم تصور دقيق لتطور الإصابة الخلوية ما قبل الورمية.

تحضير الأنسجة :

يمكن ملاحظة عينة خزعة من الغشاء المخاطي للفم مجهرياً بعد معالجتها بشكل مناسب قد تشمل خطوات تحضير العينات الحفاظ الصحيح على الأنسجة، والجفاف، والتطهير، وتسرب البارافين، والتقطيع، والتلوين، والأكثر شيوعاً باستخدام الهيماتوكسيلين والإيوزين تميز تقنية الهيماتوكسيلين والإيوزين بدقة بين المكونات الخلوية المختلفة عن طريق تلطيخ النواة والسيتوبلازم بألوان متباينة [Squier & Kremer, 2001].

الكيمياء النسيجية والكيمياء الخلوية :

يتم التعرف على بعض مكونات الغشاء المخاطي للفم من خلال تقنيات المناعة النسيجية على سبيل المثال تتطلب خلايا لانغرهانز تفاعلات مناعية نسيجية محددة، مثل المناعة النسيجية **S-100** لا يمكن ملاحظة خلايا ميركل بسهولة في العينات الملطخة بالهيماتوكسيلين والإيوزين وعادة ما يتم التعرف عليها من خلال تقنيات المناعة النسيجية. إنها تعبر عن خيوط الكيراتين

الوسيطة البسيطة CK 7 و 8 و 18 و 19 و 20. علاوة على ذلك، يوجد CK20 فقط في براعم التذوق وخلايا ميركل في الظهارة الحرشفية الطبقية [توماس & إريكسون، 2008].

المجهر الضوئي:

يتم استخدام المجهر الضوئي(**LM**) لتصور الهياكل المختلفة لعينة مخاطية الفم الملطخة. من خلال فهم المظهر الطبيعي للغشاء المخاطي للفم، يصبح من الممكن تحديد التغيرات المرضية في الأنسجة.

المجهر الإلكتروني :

يستخدم المجهر الإلكتروني(**EM**) شعاعاً من الإلكترونات لإنتاج صورة للعينة بدلاً من الضوء، مما يؤدي إلى إنشاء صور عالية الدقة تحدد بشكل أفضل الهياكل النسيجية. باستخدام المجهر الإلكتروني، يمكن التعرف على السمات الدقيقة للظهارة، مثل الوصلات الملتصقة، والوصلات الضيقة، والوصلات الفجوية، والدسموسومات، والهيميدسموسومات، والصفيحة القاعدية، التي تفصل الظهارة عن النسيج الضام[توماس & إريكسون، 2008].

2.1 التغيرات النووية (Nuclear Alterations):

تُعتبر النواة بمثابة "العقل الجزيئي" للخلية وأي تغير يطرأ عليها يعكس بشكل مباشر مدى تعرض الخلية لأذى وراثي أو طفرات. لقد أظهرت العديد من الدراسات الميكروسكوبية أن خلايا الغشاء المخاطي الفموي لدى المدخنين تعاني من تغيرات كبيرة في البنية النووية، من بينها:

- **تكبير حجم النواة (Nuclear Enlargement)** نتيجة تحفيز النشاط النسخي اللاعتيادي.
- **فرط تصبغ الكروماتين (Hyperchromatism)** الذي يُظهر كثافة زائدة في المادة الوراثية.
- **عدم انتظام شكل النواة (Irregular Nuclear Borders).**
- **ظهور أكثر من نواة داخل الخلية الواحدة (Multinucleation)** مما يدل على اختلال الانقسام الخلوي.

وقد بيّنت دراسات تحليل الخلايا المأخوذة من باطن الخد أن نسبة هذه التغيرات لدى المدخنين تفوق غير المدخنين بأكثر من 5 أضعاف [Rezende et al., 2008]، وهي علامات تحذيرية حيوية لتحول ما قبل سرطاني.

2.2 نسبة النواة إلى السيتوبلازم (N/C Ratio):

تُعد نسبة النواة إلى السيتوبلازم (**Nucleus to Cytoplasm Ratio, N/C Ratio**) واحدة من أهم المعايير السيتولوجية التي تُستخدم للكشف عن التحولات الخلوية غير الطبيعية وهي من المؤشرات المبكرة على التحول الخبيث في الخلايا الظهارية في الوضع الطبيعي تكون النواة ذات حـــجم صغير نسبيًا مقارنةً بالحجم الكلي للسيتوبلازم مما يعكس استقرار الخلية وتوازن عملياتها الأيضية والانقسامية.

لكن في ظل تأثير العوامل المسرطنة المزمنة مثل التدخين تحدث تغيرات عميقة في البنية الخلوية، من بينها ازدياد حجم النواة بشكل ملحوظ، نتيجة لزيادة النشاط الجيني والتكاثر النووي غير المنضبط، في حين يضعف نمو السيتوبلازم أو يتراجع، مما يؤدي إلى ارتفاع واضح في نسبة **N/C.** ويُعد هذا الارتفاع دلالة على فقدان الخلية لقدرتها على التنظيم الطبيعي ودخولها في مسارات تحول سرطاني محتمل.

من أكثر المؤشرات الخلوية استخدامًا لتقييم التحول الخبيث هو نسبة حجم النواة إلى السيتوبلازم (**N/C Ratio**). في الخلايا الطبيعية، تكون النواة صغيرة نسبيًا مقارنةً بالسيتوبلازم. أما في الخلايا المتأثرة بعوامل مسرطنة كالتدخين، فتبدأ هذه النسبة بالارتفاع نتيجة زيادة حجم النواة وضعف التكوين السيتوبلازمي، وهي سمة مرتبطة بنشاط انقسامي زائد وغير طبيعي.

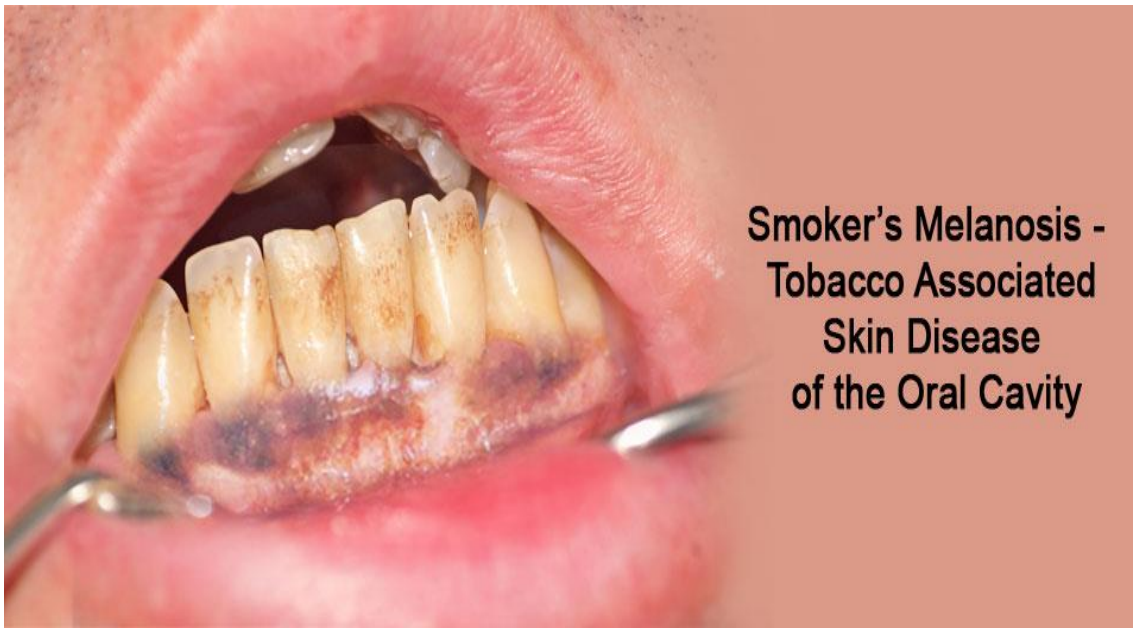
وقد أظهرت دراسة مقارنة أجراها (Shetty et al). عام 2013 على **60** مشاركًا (30 مدخن و30 غير مدخن) أن متوسط **N/C Ratio** لدى المدخنين بلغ **0.71** مقارنةً بـ **0.45** لدى غير المدخنين وهو ارتفاع واضح يشير إلى مسار غير طبيعي في التمايز الخلوي.

2.3 فرط التقرن والتصبغات (Hyperkeratosis and Melanosis):

إن التحفيز المزمن للغشاء المخاطي الفموي بواسطة الحرارة والمواد الكيميائية للتدخين يؤدي إلى تراكم طبقات كيراتينية مفرطة على السطح، في عملية تُعرف بفرط التقرن (***hyperkeratosis***) وهذه الظاهرة، رغم أنها تمثل في البداية رد فعل وقائي من الخلايا، إلا أنها تشكل بيئة خصبة لحدوث تغيرات طفرية لاحقة، خصوصًا عند ارتباطها بظاهرة الطلاوة الفموية البيضاء (**Leukoplakia**)، التي تعتبر من أكثر الآفات ما قبل السرطانية شيوعًا بين المدخنين [Warnakulasuriya, 2007].

وتُـــعد استجابة الغشاء المخاطي الفموي للتدخين في صورة فرط التـــقرن أحد أبرز المظاهر التكيفية يتمثل هذا التغير بتكثف في طبقة الكيراتين كاستجابة دفاعية للمواد المهيجة. لكن استمرار هذه الاستجابة قـــد يؤدي إلى ظهور الطلاوة الفموية البيضاء (*Leukoplakia*) التي تُعد من أبرز الآفات ما قبل السرطانية المعروفة.

إلى جانب فرط التقرن يُلاحظ في العديد من المدخنين ظهور تصبغات داكنة على اللثة والخدود، تُعرف باسم تصبغات المدخنين (**Smoker's Melanosis**) وهي ناتجة عن تحفيز الخلايا الميلانينية لإنتاج الميلانين بفعل مكونات النيكوتين وقد بينت دراسة (Guglielmetti et al). أن هذه التصبغات ترتبط طرديًا بمدة التدخين وعدد السجائر اليومية.



صـــورة (1) تصبغات فموية نتيجة التدخين

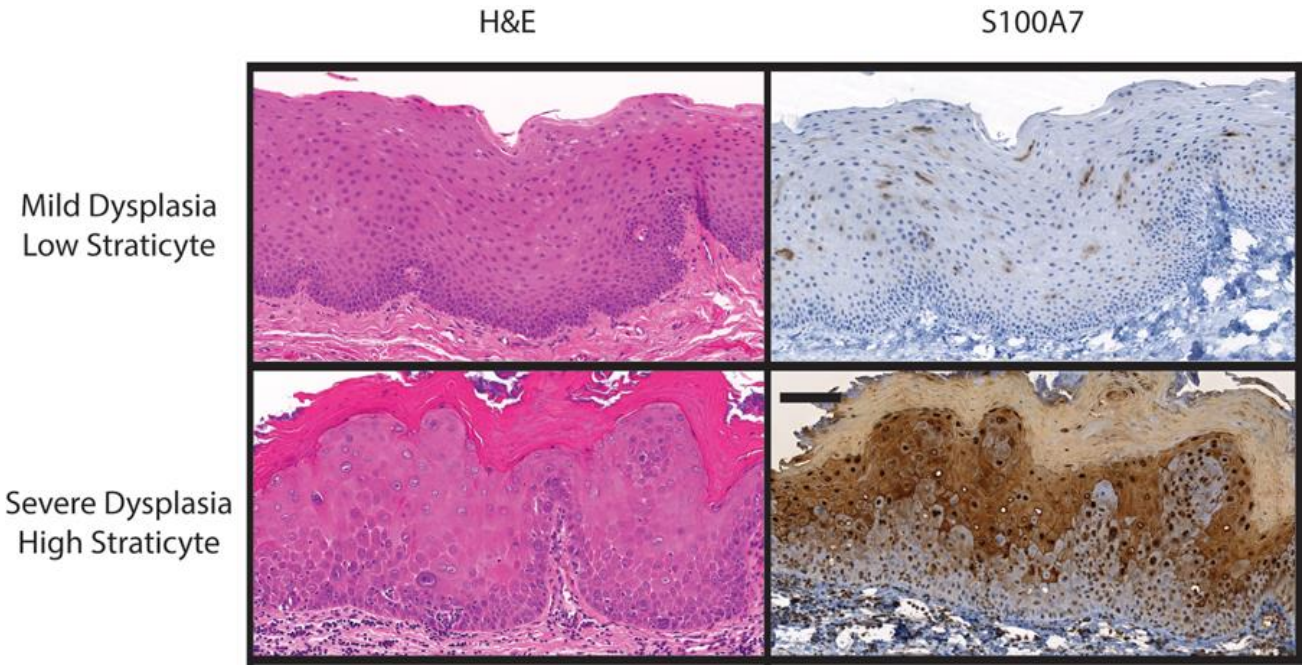
2.4 خلل التنسج (Dysplasia):

يُعد خلل التنسج (**Dysplasia**) من أبرز التغيرات الخلوية التي تُلاحظ في الغشاء المخاطي الفموي لدى المدخنين، وهو مصطلح يُطلق على التحولات ما قبل السرطانية التي تُصيب البنية النسيجية للخلايا الظهارية، نتيجة اضطراب في تمايزها وتكاثرها. ويُمثل ظهور خلل التنسج علامة إنذار مبكرة تشير إلى خطر تطور سرطان الخلايا الحرشفية الفموية، والذي يُعد أكثر أنواع السرطان شيوعًا في التجويف الفموي [Warnakulasuriya، 2009].

تنجم هذه الحالة عن التعرض المزمن للمواد المسرطنة الموجودة في دخان التبغ مثل البنزوبيرين والنيتروزامين، والتي تتسبب في أذية مباشرة للحمض النووي (**DNA**) في الخلايا الظهارية مما يؤدي إلى اضطرابات في الانقسام الخلوي الطبيعي وظهور خلايا غير منتظمة الشكل والحجم ذات أنوية كبيرة وفرط تلون نووي إضافة إلى اضطراب في نسبة النواة إلى السيتوبلازم [Reibel، 2003].

وتُقسم شدة خلل التنسج إلى ثلاث درجات تبعًا لعمق التغيرات النسيجية ضمن طبقات الظهارة: **خلل تنسج بسيط (يصيب الثلث السفلي من الظهارة)، ومتوسط (يشمل الثلثين السفليين)، وشديد (يمتد إلى كامل طبقة الظهارة دون اختراق الغشاء القاعدي)** ومع ازدياد شدة خلل التنسج تزداد احتمالية التحول الخبيث [Speight & Khurshid, 2007].

كما تشير دراسات عديدة إلى أن الخلايا المصابة بخلل التـــنسج تُظهر زيادة في معدل الانقسام الخلوي وانخفاض في معدلات الموت المبرمج (**Apoptosis**) مما يمنحها قدرة أكبر على الاستمرار والنمو غير المنـــضبط هذه التغيرات تؤهلها للتحول إلى خلايا سرطانية في حال عدم التدخل العلاجي أو التوقف عن التدخين [Kaugars et al., 1996].



صـــورة (2) صورة مجهرية تظهر خلل التنسج في خلايا الغشاء المخاطي الفموي

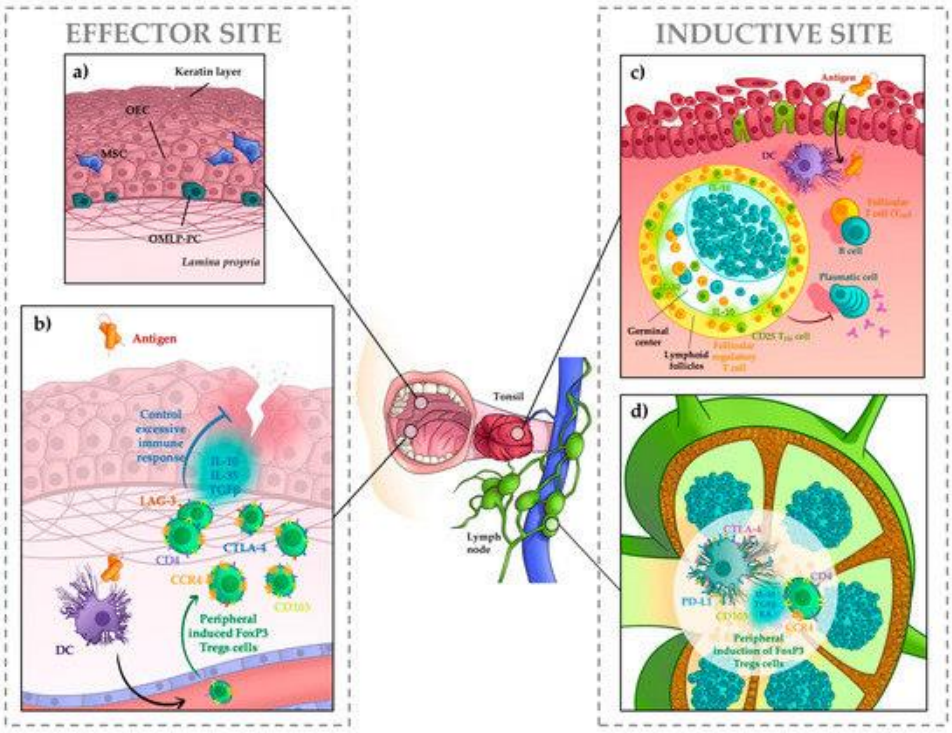
2.5 تراجع المناعة الموضعية:

يُسهم التدخين بشكل مباشر في إضعاف المناعة الموضعية داخل التجويف الفموي مما يجعل الغشاء المخاطي أكثر عرضة للإصابات الالتهابية والتغيرات الخلوية يحتوي دخان السجائر على أكثر من **7000** مادة كيميائية العديد منها ذات خصائص سامة ومثبطة للمناعة مثل الفورمالديهايد، وأول أكسيد الكربون، والهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات [Seymour et al., 2007].

أحد أبرز آثار الـتدخين هو تثبيط وظائف الخلايا المناعية المقيمة في النسيج الفموي، مثل الخلايا المتغصنة (***Langerhans cells***) والخلايا التائيـــة والبلاعـــم حيث ينخفض عدد هذه الخلايا في الطبقة الظهارية نتيجة التعرض المزمن للنيكوتين والمواد الـسامة مما يؤدي إلى تقليل القدرة على التعرف على المستضدات والتعامل مع العدوى أو الطفرات الخلوية [Zhou et al., 2016].

كما أظهرت دراســات أن الـتدخين يقلل من إفراز الـ(**IgA**) اللعابي وهو الغلوبولين المناعي الرئيسي في الفم، المسؤول عن الحماية ضد البكتيريا والفيروسات هذا الانخفاض يؤدي إلى خلل في توازن الفلورا الفموية وزيادة في الاستعمار الميكروبي الممرض مما يعزز الالتهابات وتدهور الحماية المناعية [Barbour et al., 2008].

إن تراجع المناعة الموضعية يُعد عاملاً مـــهيئًا لتحول الخلايا الظهارية المتضررة إلى خلايا شاذة لا تُزال بفعالية من قبل الجهاز المناعي ما يسمح باستمرارها وتطورها إلى مراحل أكثر خطورة مـــثل خلل التنسج أو حتى السرطان [Scott et al., 2006].



صـــورة (3) تـــأثير التدخين علئ الخلايا المناعية في الغشاء الفموي

2.6 الأدلة السريرية والتحاليل الخلوية:

تؤكد الأدلة الـــسريرية والتحاليل الخلوية وجود ارتباط وثيق بين التدخين والتغيرات المرضية في الغشاء المخاطي للفم وقـــد استُخدمت تقنيات علم الخلايا (**Cytology**) كوسيلة فعالة وغير جراحية للكشف عن هذه التغيـــرات في مراحلها المبكرة.

في الفحوص السريريـــة يـُلاحظ لدى المدخنين وجود تغيرات واضحة مثل: الطلاوة (***Leukoplakia***) والحمى تحت اللسانية، والبقع الحمراء (**Erythroplakia**)، وهي علامات سريرية مرتبطة في كثير من الأحيان بتغيرات خلوية ما قبل سرطانية وتُعد هذه العلامات دافعًا أساسيًا لإجراء تقييم خلوي نسيجي معمق [van der Waal, 2010].

أما من الناحية الخلوية فـــقد أظهرت التحاليل المأخوذة من مسحات الغشاء الفموي لدى المدخنيـــن وجود تغيرات نمطية مثل: فرط التقرن (**Hyperkeratosis**)، والتغيرات النواتية كفرط الكروماتين وتعدد الأشكال وزيادة نسبة النواة إلى السيتوبلازم وهي مؤشرات حيوية على الاضطراب في السلوك الخلوي [Ogden et al., 1997].

وقد ساهمت الطرق الحديثة مثل اختبار **Papanicolaou** والصبغات الخاصة مثل **Feulgen** في تعزيز القدرة على رصد التغيرات المبكرة بدقة. وتُعد هذه الفحوص ذات أهمية تشخيصية عالية لأنها تتيح مراقبة الخلايا في حالات ما قبل التسرطن دون الحاجة إلى أخذ خزعات جراحية، مما يسهم في التشخيص المبكر وتقديم العلاج المناسب قبل تطور المرض [Ramani et al., 2015].

3.البصمة الفموية والتدخين bucal smear smoking:

يُعد التدخين من أكثر العوامـــل الضارة التي تؤثر بشكل كبير على صحة الفم والأغشية المخاطية يحتوي دخان السجائر على آلاف المواد الكيميائية السامة التي تؤثر على خلايا الفم مما يؤدي إلى حدوث تغيرات خلوية ملحوظة أحـــد الأساليب الفعالة للكشف عن هذه التغيرات هو تحليل "البصمة الفموية" أو "**Bucal Smear**"، التي توفر طريقة دقيقة لفحص الخلايا المأخوذة من الأغشية المخاطية للفم باستخدام المجهر من خلال هذا الفحص يمكن تقييم التغيرات التي تحدث في الخلايا بسبب تأثيرات التدخين والتي قد تشمل التغيرات في الخلايا الكيراتينية الالتهابات المزمنة، والتغيرات السرطانية المبكرة في هذا الجزء من البحث سنتناول تأثير التدخين على الخلايا الفموية من خلال تحليل البصمة الفموية وتوضيح كيفية استخدام هذه الأداة في التشخيص المبكر للتغيرات الخلوية الناتجة عن التدخين.

3.1 التغيرات الخلوية في البصمة الفموية نتيجة التدخين:

التدخين يؤدي إلى مجموعة من التغيرات الخلوية التي يمكن ملاحظتها في البصمة الفموية. من أبرز هذه التغيرات، زيادة في عدد الخلايا الكيراتينية، التي تستجيب لتأثير المواد السامة في دخان السجائر بزيادة سمك الطبقة القرنية للغشاء المخاطي للـــفم تشير الدراسات إلى أن التدخين يزيد من نشاط الخلايا الكيراتينية كرد فعل وقائي ضد السموم ولكن هذه الزيادة قد تؤدي إلى ظهور خلايا غير طبيعية مع مرور الوقت مما يعزز احتمالية حدوث تحول خلوي إلى خلايا سرطانية في حالة استمرار التعرض لهذه المواد السامة [Seymour et al., 2007].

بالإضافة إلى الخلايا الكيراتينية قـــد تظهر تغيرات أخرى في شكل الخلايا مثل **تغيرات في شكل النواة والتكاثر غير الطبيعي للخلايا** هذه التغيرات تظهر بشكل واضح من خلال فحص البصمة الفموية باستخدام المجهر، وتعتبر بمثابة إشارات مبكرة لوجود أضرار في الخلايا الفموية بسبب التدخين [Zhou et al., 2016].

3.2 تأثير التدخين على الجهاز المناعي الفموي:

يُسهم التدخين في إضعاف المناعة الموضعية داخل التجويف الفموي مما يجعل الأنسجة الفموية أكثر عرضة للإصابات الالتهابية والتغيرات الخلوية غير الطبيعية يحتوي دخان السجائر على مواد كيميائية سامة تؤثر على الخلايا المناعية المقيمة في الفم، مثل الخلايا التائية والخلايا المتغصنة (**Langerhans cells**) مما يؤدي إلى انخفاض عدد هذه الخلايا وتثبيط نشاطها [Barbour et al., 2008] الخلايا المتغصنة تعد من الخلايا المناعية المهمة التي تساعد في التعرف على المستضدات، وعندما تتأثر بهذه السموم، يتراجع نشاط جهاز المناعة الفموي بشكل عام، مما يزيد من احتمالية حدوث التهابات مزمنة وزيادة في انتشار الكائنات الميكروبية الضارة داخل الفم.

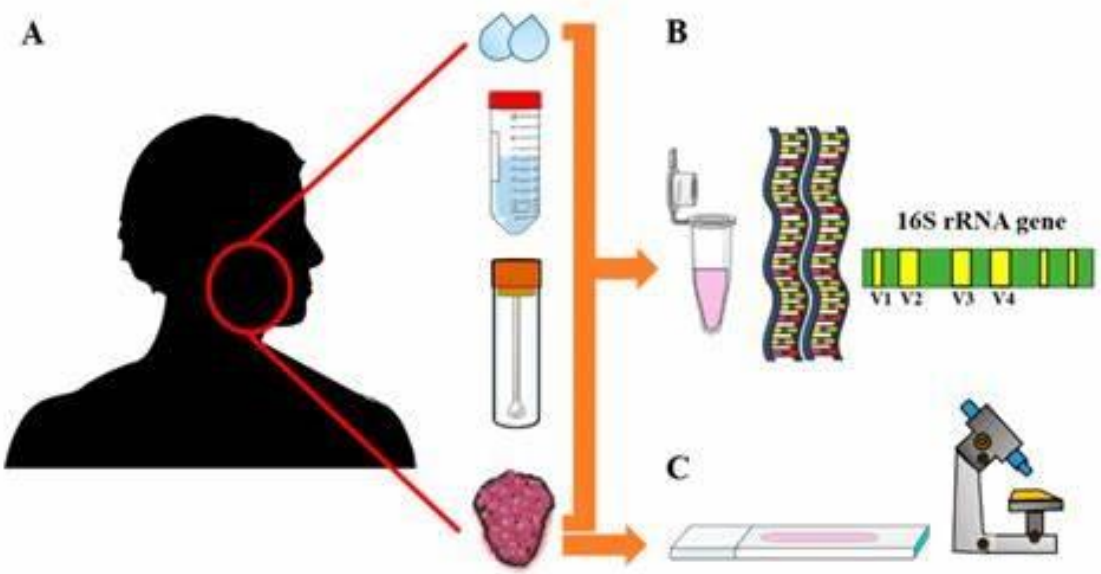
إضافة إلى ذلك، يؤدي التدخين إلى تقليل إفراز الجلوبولين المناعي (**IgA**) في اللعاب وهو المسؤول عن الحماية ضد البكتيريا والفيروسات داخل الفم [Scott et al., 2006]. هذا النقص

في **IgA** يعزز من قدرة البكتيريا الممرضة على استعمار الفم مما يزيد من خطر الإصابة بالتهابات فموية مزمنة مثل التهاب اللثة والخراريج الفموية.

3.3 المــسحة الفموية كأداة تشخيصية للتغيرات الخلوية:

تعتبر البصمة الفموية (**Bucal Smear**) أداة فعالة لتشخيص التغيرات الخلوية الناتجة عن التدخين في الأغشية المخاطية الفمــوية يتم جمع العينة من الفم بواسطة مسحة صغيرة يتم فحصها باستخدام المجهر للكشف عن التغيرات الخلوية مــثل زيادة عدد الخلايا الكــيراتينية أو التغيرات في شكل الخلايا تــظهر الدراسات أن هذه التقنية تُعد واحدة من أفضل الطرق للكشف المبكر عن التغيرات المبدئية التي قد تشــير إلى وجود مشاكل صحية كبيرة في الفم بما في ذلك السرطان الفموي [Johnson et al., 2020].

إن البصــمة الفموية تعتبر أداة غير جراحية وســهلة التطبيق ويمكــن استخدامها كطريقة فحص روتينية للكشف المبكر عن التغيرات الخلوية لدى المــدخنين وقد أظهرت الدراسات أن المدخنين لديهم معدلات أعلى من التغيرات الخلوية السلبية مقارنةً بغير المدخنين، مما يجعل البصمة الفــموية أداة حاسمة في الفحص المبكر للآثار السامة الناجمة عن التدخين [Martinez et al., 2019].



صــورة (4) صورة تظهر عملية أخذ عينة البصمة الفموية وتحليلها تحت المجه.

4. التدخين (Smoking):

1.4 المقدمـــة:

في قلــب كــل خلية حية ينبض نظام دقيق يُترجم الشيفرة الوراثية إلى حياة ولكن في ظل التعرّض المزمن لدخان السجائرتتحول هذه الدقة البيولوجية إلى فوضى بطيئة مدمّرة فالتدخين لا يُعدّ مجرد عادة سلوكية مرتبطة بالجانب النفسي أو الاجتماعي للفرد بــل هو عامل ضغط بيولوجي قوي (***biological stressor***) يــخترق الــحواجز الدفاعية للجسم ليُحدث سلسلة من التفاعلات الخلويــة والجزيئية ذات طــابع التدهور المستمر والذي غالبًا ما يظل صامتًا حتى يصل إلى مرحلة اللاعودة [Hecht, 2003].

ومن الناحية الوبائية تــضع منظمة الصحة العالمية التدخين في قائمة الأسباب الأولى للوفيات التي يمكن تجنّبها عالميًا إذ يُسهم في وفاة أكثر من **8** ملايين إنسان سنويًا من بينهم أكثر من مليون شخص يُفارقون الحياة بسبب التدخين غير المباشر (**التدخين السلبي**) [WHO, 2022]. تتوزع الأضرار الصحية الناتجة عنه على كل جهاز من أجهزة الجسم دون استثناء ولكن اللافت أن التأثيرات على المستوى الخلوي تُعدّ الأكثر خطورة، لأنها تؤسس لتحولات مرضية دقيقة قد لا تُلاحظ سريريًا في البداية، لكنها تقود إلى أمراض مزمنة مستعصية كالتليف، التسرطن، وتدهور التجديد النسيجي [Pfeifer et al., 2002].

دخـــــــان السجائر هو مــزيج كيميائي معقد يحتوي على آلاف المركبات التي تتفاعل مع الأغشية الخلوية، البروتينات، والمادة الوراثية. النيكوتين، وهو العنصر الأكثر شهرة، لا يشكّل سوى قمة جبل الجليد. فالتدخين يُطلق في جسم الإنسان طوفانًا من الجذور الحرة، ومركبات نيتروزو وهيدروكربونات عطرية متعددة الحلقات (**PAHs**) وكل منها يحمل قدرة واضحة على إحداث طفرات جينية، كسر في سلاسل الحمض النووي (**DNA breaks**) وتعديلات في أنظمة الإصلاح الخلوي [Talhout et al., 2011]. هذه التغيرات الجزيئية لا تمثل فقط بذورًا محتملة للتسرطن بــل تُضعف أيضًا الآليات الدفاعية الطبيعية مثل المناعة الموضعية وتجعل الجسم بيئة خصبة للعدوى والالتهاب المزمن [Rahman & Adcock, 2006].

ولعلّ أخطر ما في التدخين أنه لا يُظهر وجهه القبيح دفعة واحدة، بل يتسلل في صمت إلى داخل الخلايا، ليعيد تشكيل بيئتها الدقيقة (**microenvironment**) عبر تغييرات خفية في التعبير الجيني التوازن الأيضي وتــكاثر الخلايا الشاذة ومــن هنا فــإن دراسة التدخين من منظور خَلوي وجزيئي لا تُعد ترفًا بحثيًا بل ضرورة لفهم الآلية العميقة لتدهور الأنسجة ولفتح الباب أمام استراتيجيات أكثر فعالية للوقاية والتدخل العلاجي المبكر.

2.4 التركيب الكيميائي لدخان السجائر وتأثيراته الخلوية:

يتكون دخان السجائر من مزيج معقد يتجاوز **7000** مركب كيميائي منها ما يزيد عن **70** مادة مصنفة كعوامل مسرطنة مؤكدة وفقًا للوكالة الدولية لأبحاث السرطان [IARC, 2012]. يُمكن تقسيم هذا الدخان إلى طورين رئيسيين: الطور الغازي (***Gas phase***) والطور الجسيمي (***Particulate phase***) حـيث يحمل كل طور منهما مركبات بخصائص سامة ومطفرة تؤثر بشكل مباشر على الوظائف الخلوية.

المكونات الرئيسية وتأثيراتها:

1. النيكوتين (Nicotine):

وهو المركب القلوي الأساس في التبغ يرتبط بمستقبلات الأسيتيل كولين النيكوتينية في الخلايا العصبية والظهارية، مما يسبب زيادة في تدفق الكالسيوم داخل الخلية ويحفز سلسلة من التفاعلات الأيضية تشمل إفراز الجذور الحرة (**ROS**) وتفعيل إشارات بقاء الخلية غير الطبيعية مثل (مسار ***PI3K/Ak***t)[Benowitz, 2010]]. هذه العمليات تُسهم في بقاء الخلايا الشاذة، وتعطيل الاستماتة (apoptosis)، وهي عملية موت الخلايا المبرمج الضرورية لمنع التسرطن.

2. أول أكسيد الكربون (CO):

يتحد مع الهيموغلوبين ليكوّن كربوكسي هيموغلوبين (COHb)، مما يقلل من إمداد الأوكسجين إلى الأنسجة ويؤدي إلى حالة نقص التأكسج المزمن، وهي بيئة محفّزة للتغيرات الخلوية المرتبطة بالنمو غير المنتظم والتحول الخبيث [Lee et al., 2000].

3. الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات (PAHs):

مثل البنزوبيرين (Benzo[a]pyrene)، تُعد من أخطر مكونات الدخان، حيث تدخل إلى الخلية وتتحول عبر إنزيمات الكبد (CYP450) إلى مركبات نشطة ترتبط مباشرة بالحمض النووي (DNA adducts)، مسببة طفرات نقطية في جينات مهمة مثل p53، الجين المسؤول عن إصلاح الحمض النووي والتحكم في دورة الخلية [Hecht, 2003].

4. الفورمالديهايد وأكرولين (Acrolein):

وهما من الألـــدهيدات السامة التي تتفاعل مع البروتينات والدهون الفسفورية في الغشاء الخلوي مما يؤدي إلى انهيار البنية الغشائية تعطيل الإنزيمات وزيادة الالتهاب الخلوي المزمن [Talhout et al., 2011].

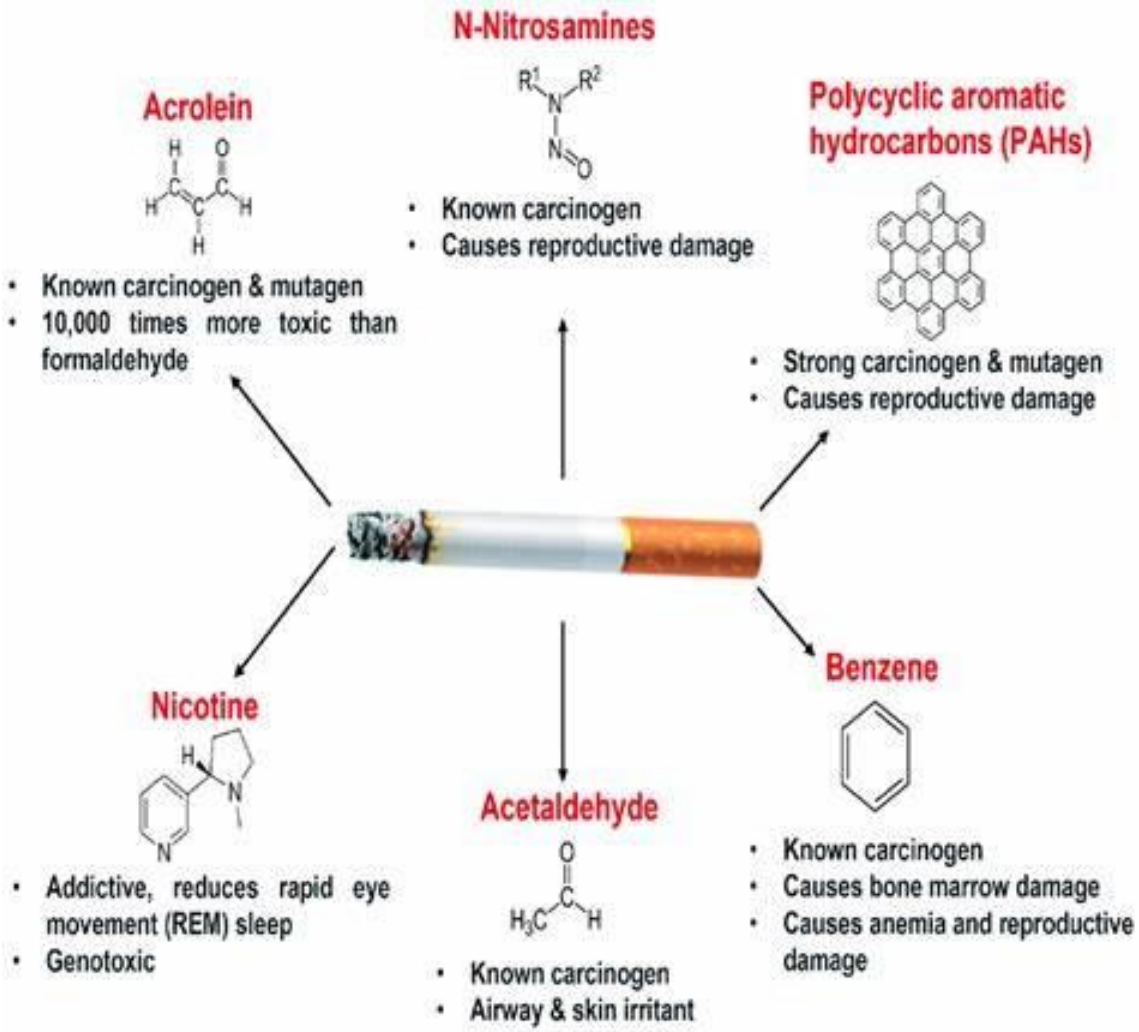
5. النيتروزامينات الخاصة بالتبغ (TSNAs):

خاصة **NNK** و**NNN**، وهي من أقوى المركبات المسرطنة في التبـــغ حيـث تُحدث تعديلات وراثية مباشرة في الخلايا الظهارية المبطنة للتجويف الفموي والرئوي [Hoffmann et al., 1997].

التأثيرات الخـــــلوية:

يُحدث دخان السجائر خللاً واسعًا في البيئة الدقيقة للخلية (***cell microenvironment***)، ومنها:

- **الإجهاد التأكسدي (Oxidative stress):** نتيجة تراكم الجذور الحرة **ROS** و**RNS** التي تتفاعل مع **البروتينات، الدهون، والحمض النووي** مما يؤدي إلى أكسدة المكونات الحـــيوية الخلوية [Rahman & Adcock, 2006].
- **الطفرات الجينية (Mutagenesis):** بسبب الارتـــباط المباشر بين مركبات **PAHs** و**TSNAs** مع الحمض النووي ممـــا يـــؤدي إلى أخطاء في النسخ الجيني وتحول الخلايا الطبيعية إلى ما قبل سرطانية.
- **تعطيل آليات الإصلاح الخلوي**: مثل كبح عمل بروتين **p53** أو **BRCA1**، ما يزيد من تراكم الأضرار الجينية [Pfeifer et al., 2002].
- **تفعيل الاستجابات الالتهابية:** عبـــر تحـــفيز إنتـــاج وسائـــط التهابية مثل **TNF-α** و**IL-6** ممـــا يخلق بيئة مزمنة للالتهاب ويُمهّد لتحول خلوي مستمر [Sopori, 2002].



صورة (5) المركبات السامة في دخان السجائر وتأثيراتها الخلوية

3.4 تأثير التدخين على انقسام الخلايا ونشاط النواة الفموية:

يتسبب التدخين المزمن في تغييرات ملحوظة في ديناميكيات الخلايا الظهارية الفموية، وبشكل خاص في معدل انقسام الخلايا (***Cell Proliferation Rate***) ونشاط النواة (*Nuclear Activity*) وهو مـــا يُـــعد من المؤشرات المبكرة على التحول الخبيث المحتمل في الغشاء المخاطي الفـــموي وتُـــظهر العديد من الدراسات أن الخلايا الفموية لدى المدخنين تخضع لتغيرات في بنيتها الوراثية وسلوكها الوظيفي مما يُـــحدث خللًا في آلية التجدد الخلوي الطبيعي [Rooban et al., 2010].

1. زيادة معدل الانقسام غير المنضبط:

يؤدي تعرض الخلايا الظهارية الفموية لمركبات دخان السجائر لاسيما النيكوتين والنيتروزامينات إلى تفعيل مسارات إشارات النمو مثل (**EGFR وMAPK وPI3K/Akt**) وهي مسارات مسؤولة عن تحفيز الانقسام الخلوي. هذا التحفيز المستمر يُضعف السيطرة على دورة الخلية ويزيد من خطر تكون طفرات أثناء الانقسام [Hecht, 2003].

وقد أظهرت فحوصات اللطاخة الفموية (***Buccal Smear***) في عينات من المدخنين ارتفاعًا واضحًا في مؤشر الانقسام (***Mitotic Index***) وظهور خلايا بأشكال غير طبيـــعية مما يشير إلى فرط تكاثر خـــلوي قد يكون مرحلة أولى في التحول الورمي [Sudbo et al., 2001].

2. تغيرات نووية (Nuclear Alterations):

من أبرز المؤشرات الخلوية التي تظهر تحت المجهر في الخلايا الفموية لدى المدخنين:

- **تضخم النواة (Nuclear Enlargement):** بسبب اضطراب محتوى الحمض النووي الناتج عن الضرر الجيني وتثبيط عملية الاســـتماتة [Baral et al., 2017].
- **فرط التلون النووي (Hyperchromatism):** وهو تـــكاثف صبغة النواة نتيجة تراكم الحمض النووي يُشـــير إلى اضطراب وظيفي في دورة الخلية.
- **تعدد الأنوية (Multinucleation):** علامة على فشـــل الانقسام السيتوبلازمي وهو مؤشر على الشذوذ الخلوي.
- **نوى غير منتظمة الشكل (Irregular Nuclear Borders):** وهي تغـــيرات نمطية تشير إلى حـــدوث طـــفرات في بروتينات الغشاء النووي.

3. اخــتبارات اللطاخة الفموية ودلالات النشاط النووي:

أثبتت الدراسات المعتمدة على فحص لطاخة الفم باستخدام تلوينات مثل ***Papanicolaou stain*** و***Feulgen reaction*** أن المدخنين يُظهرون مؤشرات أعلى بكثير من غير المدخنين في:

- نسبة الخلايا ذات النوى المكبرة والمكثفة (***Karyorrhexis, Pyknosis***)
- زيادة نسبة الانقسامات غير الطبيعية (***Binucleated cells, Micronuclei***)

وهذه الدلالات تعكس الإجهاد الجيني وتدني جودة الانقسام الـــــمراقب مما يشير إلى وجود طفرات أو فشل في آليات الإصـــلاح النووي [de Geus et al., 2014].

4. المدى الزمني لتأثير التدخين:

تبيــّن أن تأثيرات التدخين على نشاط النواة تبدأ بالظهور حتى بعد فترة قصيرة نسبيًا من بدء التدخين المنتظم (أقل من سنة) إلا أن تراكم الأضرار يكون تصاعديًا مع مرور الوقت وخصوصًا في حال استمرار التعرض لدخان السجائر بجرعات عالية يوميًا [Nwhator et al., 2015].

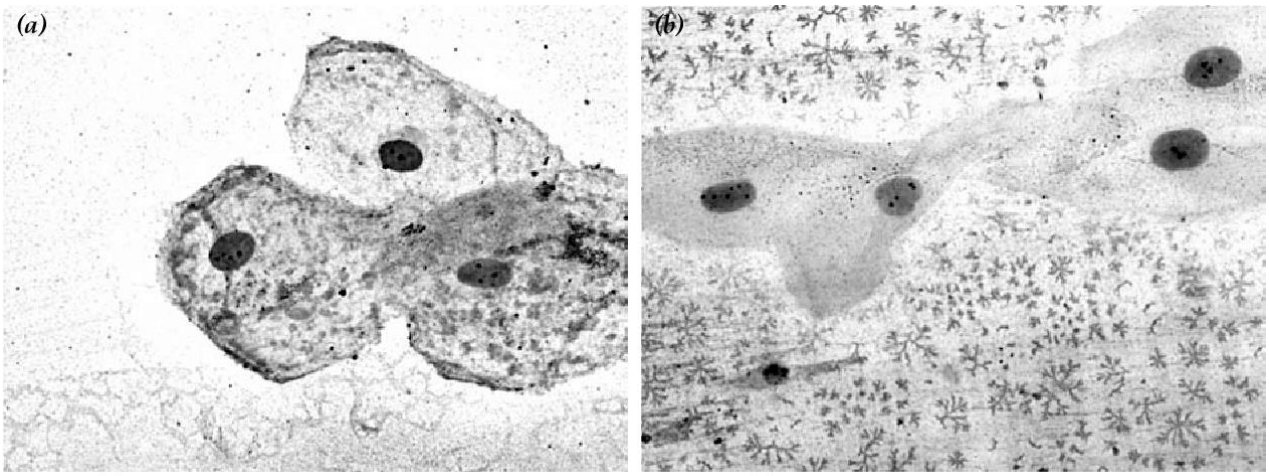


*Fig. 1- **(a)** Squamous epithelial cells of a non-smoker (AgNOR x 400). **(b)** Squamous epithelial cells of a smoker (AgNOR*

صــورة (6) مجهرية توضح الفروقات في حجم وشكل النواة في خلايا فموية من مدخنين مقارنة بغير المدخنين

4.4 التأثيرات الوراثية والجينية للتدخين على خلايا الفم:

يُعد التدخين من العوامل البيئية المؤثرة بعمق على سلامة المادة الوراثية (*DNA* ***integrity***) في خلايا الغشاء المخاطي الفموي إذ يــحتوي دخان السجائر على أكثر من **70** مادة مسرطنة مُثبتة، أبرزها: البنزوبيرين، والنيتروزامينات التبغية، والفورمالديهايد، والتي تملك القدرة على التفاعل المباشر مع DNA الخلية، مسببة طفرات جينية قد تؤدي إلى تغيرات ما قبل سرطانية [Hecht, 2003].

1. تشكل الإضافات الجينية (DNA Adducts):

عند دخول هذه المركبات السامة إلى الخلية، فإنها ترتبط تساهميًا بقواعد **DNA** مكوّنةً ما يعرف بـ الإضافات الجينية وهي بنى غير طبيعية تُعيق النسخ الوراثي وتسبب أخطاء في التضاعف. وقد ثبت أن المدخنين لديهم نسب مرتفعة من هذه الإضافات في خلاياهم الفموية مقارنة بغير المدخنين [Phillips, 2005].

هذه الإضافات تُعد العلامة الأولى لبدء سلسلة من التغيرات الجينية، وقد تم الكشف عنها باستخدام اختبارات مثل ***P32-postlabeling assay*** و***Comet assay***.

2. الطفرات الجينية في الجينات الكابتة للأورام:

أحد أكثر الأهداف شيوعًا في خلايا الفم المتأثرة بالتدخين هو جين **TP53** وهو جين كابت للأورام ومسؤول عن تنظيم دورة الخلية والاستجابة للضرر الوراثي. وقد وُجد أن طفرات هذا الجين منتشرة بوضوح في خلايا الفم عند المدخنين المزمنين، مما يُعطل عملية "الموت الخلوي المبرمج" (***Apoptosis***) ويزيد من احتمالية تراكم خلايا غير طبيعية [Boyle et al., 1994].

كذلك رُصدت طفرات في الجين **CDKN2A (p16)** الذي يلعب دورًا محوريًا في التحكم بانتقال الخلية من الطور **G1** إلى **S** في دورة الانقسام ومع تعطيله تزداد قابلية الخلية للدخول في انقسام غير مراقب [Calmon et al., 2007].

3. تأثيرات فوق جينية (Epigenetic Alterations):

لا تقتصر تأثيرات التدخين على الطفرات الجينية المباشرة، بل تشمل أيضًا التغيرات فوق الجينية، مثل:

- **فرط المثيلة (Hypermethylation)** لمناطق محفزات الجينات الكابتة مما يؤدي إلى إسكاتها وعدم التعبير عنها.
- **تعديل تنظيم الميكرو RNA (miRNA)** الذي يؤثر على التعبير الجيني واستقرار الـ mRNA.

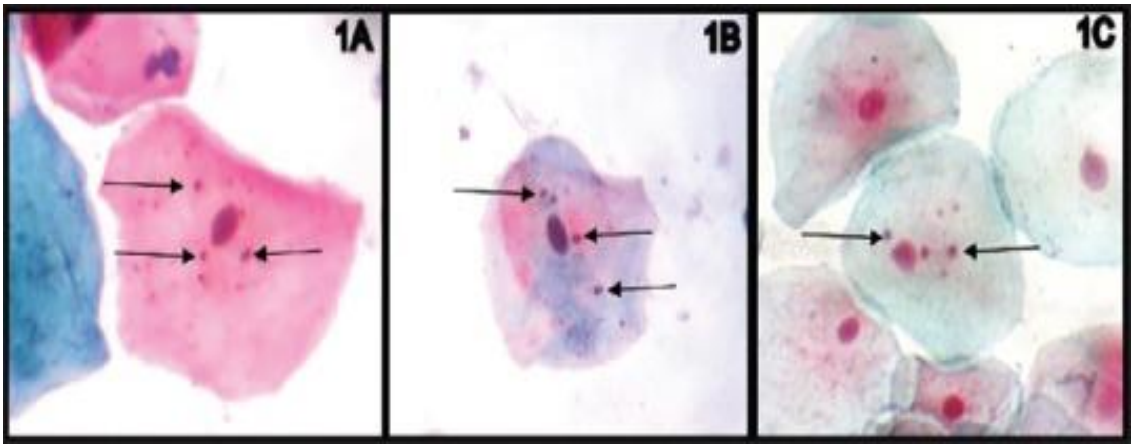
وقد وجدت دراسات أن مستويات مثيلة الجين **DAPK1** وهو جين محفز للموت الخلوي، تكون مرتفعة في خلايا المدخنين، مما يُعزز من قدرة الخلايا المتضررة على النجاة والاستمرار [Leng et al., 2012].

4. اختبارات التحري عن الضرر الجيني في خلايا الفم:

تُستخدم عدة طرق للكشف عن الأضرار الجينية في الخلايا الفموية، منها:

- **اختبار النواة الدقيقة (Micronucleus Assay)** الذي يكشف عن الشذوذ الكروموسومي.
- **تحليل تلف الحمض النووي بواسطة اختبار Comet** والذي يُظهر مدى التكسر في سلاسل DNA.

وأظهرت دراسة لـ [Sharma et al., 2010] أن المدخنين يمتلكون تكرارًا أعلى من الخلايا الحاوية على نوى دقيقة، ما يُعد دليلًا مؤكدًا على ضرر جيني مزمن.



صـــورة (7) ظهر نواة خلوية غير طبيعية كدليل على وجود ضرر كروموسومي ناتج عن التدخين

الفصل الثالـــث

الـمواد وطـرائـق الـعمل :

Materials and methods

1.3 جـمع العيــنات (Sample Collection) :

تم جمع العينات من المرضى باستخدام الفرشاة الخلوية (**Cellular Brush**)، حيث يتم تمرير الفرشاة بلطف على السطح الداخلي للفم لجمع الخلايا استخدام **40** عينه **20** كانت من المدخنين و **20** كانت من غير المدخن تم اخذ العينات من الفئات العمرية تتراوح بين **18سنه** إلى **30سنه** تم اخذ العينات باستخدام الفرش الخلوية ذالك عن طريق اخذ المسحة من التجويف الفموي والخاصة من المنطقة الــخد تم فرش العينة على الشريحة الزجاجية تم التعليم الشريحة ثم يتم استخدام بالصبغتين الصبغة الهيماتوكسين والصبغه الايوسبن

بعد ذلك، يتم فرد العينة مباشرة على شريحة زجاجية نظيفة (**Glass Slide**) بطريقة موحدة لتوزيع الخلايا بشكل مناسب.

2.3 تثبيت العينة (Fixation)

بعد اخذ العينة من ضمن الدراسة ثم نترك الشريحة لتجف لمده 5دقايق بعد ذلك يتم إجراءات عملية التصبيغ عليه

3.3 التصبيغ(Staining)

هو إجراء الروتيني في المختبرات علم الانسجة نستخدم الصبغات الصناعية أو الطبيعية حتى يتم التلوين الأنسجة مثل صبغه الهيماتوكسين وصبغه الايوسبن

استخدمتها في التصبيغ العينات الصبغه الهيماتوكسين والصبغه الايوسبن تبين النواه والسايتوبلازم

- **جمع العينة:** أُخذت العينات من خدود أفراد مدخنين وغير مدخنين باستخدام فرشاة خلوية.
- **فرد العينة**: فُردت العينة على شريحة زجاجية نظيفة، ثم تُركت لتجف في الهواء لمدة 5 دقائق.
- **الترطيب**: وُضعت الشريحة في الماء المقطر لمدة دقيقتين.
- **التلوين الأساسي**: غُمِرت الشريحة في صبغة الهيماتوكسيلين لمدة 5 دقائق.
- **الغسل**: غُسلت الشريحة بالماء الجاري لمدة دقيقتين لإزالة الصبغة الزائدة.
- **التلوين الثانوي**: وُضعت العينة في صبغة الإيوسين لمدة دقيقتين لتلوين السيتوبلازم.
- **غسل إضافي**: غُسلت العينة مرة أخرى بالماء الجاري لمدة دقيقتين.
- **التجفيف التدريجي**: مرت الشريحة بتراكيز تصاعدية من الإيثانول (كحول إيثيلي) بتركيزات 70%، 95%، 100%، وكل تركيز لمدة دقيقة واحدة.
- **التنظيف النهائي**: وُضعت الشريحة في مادة الزايلين لتنظيفها من الدهون وتحضيرها للتثبيت.
- **التغطية**: وُضعت نقطة من مادة التثبيت DPX، ثُم غُطيّت العينة بغطاء زجاجي.

- **الفحص المجهري**: تم فحص العينات تحت المجهر الضوئي على قوة تكبير x400، حيث ظهرت تفاصيل النواة والسيتوبلازم بوضوح، مما ساعد في تقييم التغيرات الخلوية بين المدخنين وغير المدخنين.

4.3 الفحص المجهري(Microscopic Examination)

بعد العملية التصبيغ تم الفحص الشريحة الزجاجية باستخدام المجهر الضوئي على القوه x400 وملاحظه التغيرات في الأشكال الخلايا وانويه

.

الــفصل الرابع

النتائــج:

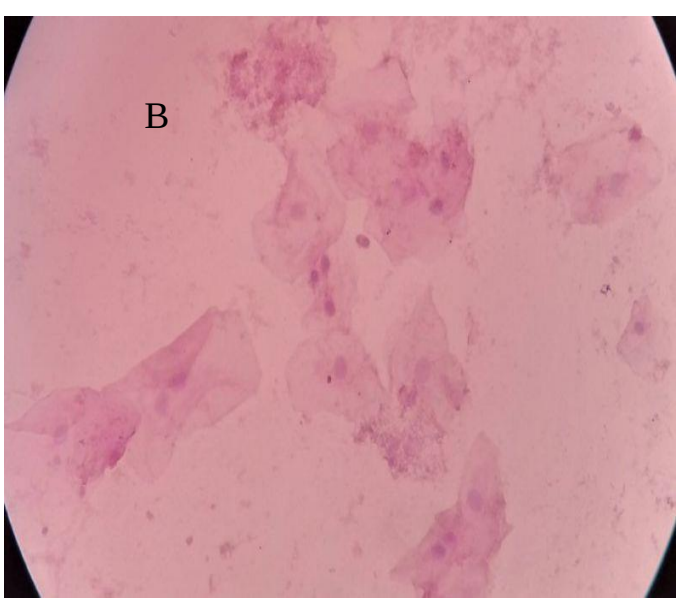
Results

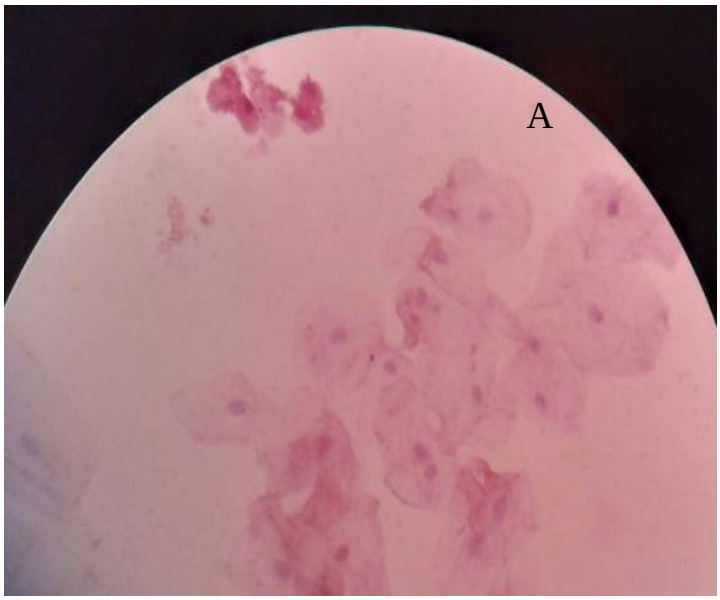
1.4 الــنتائــج :

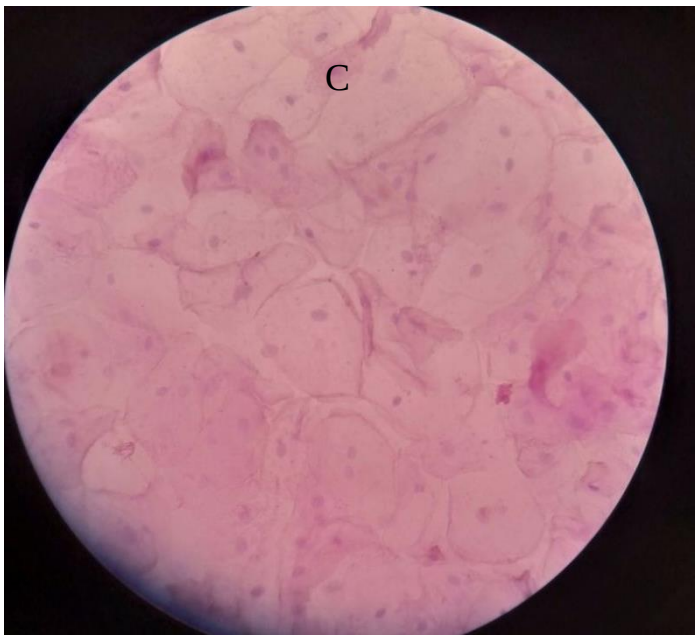
اظهرت الدراسات الخـــــــلوية وتوزيع العينات وفق اعداد الخلايا في مناطق التي تباين في تعداد الخليـــة بشكل كبير مواقع اخذ العينات عن طريق الفم من **40** العينة **20** مدخنين **20**غير مدخنين مـــــن كلا جنسين والفئات العمرية المختلفة تم هذا العينات بالـفرش الخـلوية مأخوذة من المنطقة الخد فقط وكشفت النتائج الدراسة عن تباين كبير واختلافات في عدد خلايا الحرشفية المتساقطة من تجويف الفم بين مدخنين وغير مدخنين يختلف عدد خلايا مدخنين مقارنه بين غير مدخنين عدد خلايا غير مدخنين اكثر من مدخنين ونلاحظ انخفاض عدد خلايا مدخنين مأخوذة من منطقة الخد من افراد مدخنين ونلاحظ الاختلافات في إعداد خلايا في تجويف الفمي عن طريق الفم بالنسبة اعداد للخلايا في منطقه الخد من الافراد غير مدخنين تكون معدل **933** وان النسبة مدخنين تكون **700** كما في الجدول

جدول (1) جـــــــدول يوضح عــدد خلايا الــمدخنين مقارنة بخلايا غير الـمدخنين للفئات العمرية

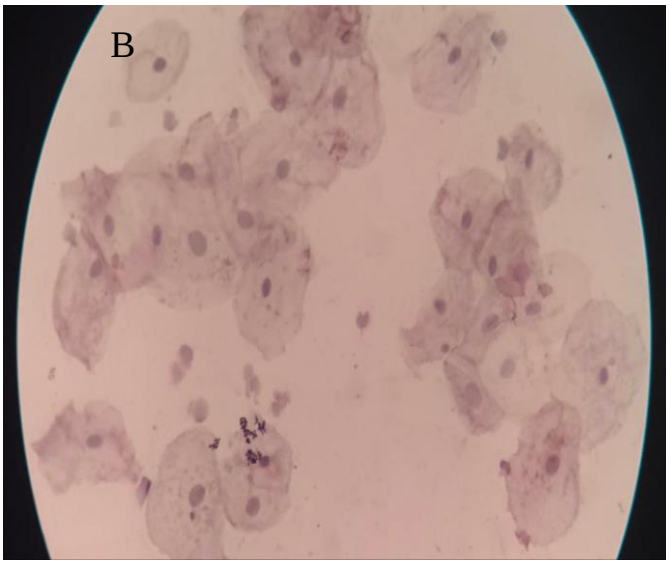
ت	الفئــة العـمرية	عدد خلايا غير المدخنين	عدد خلايا المدخنين
1	**23_18**	**875**	**725**
2	**26_23**	**925**	**700**
	30_26	**1000**	**675**

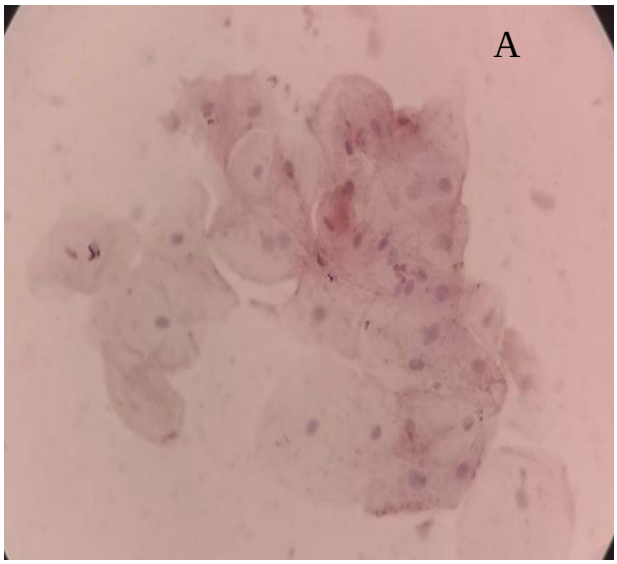


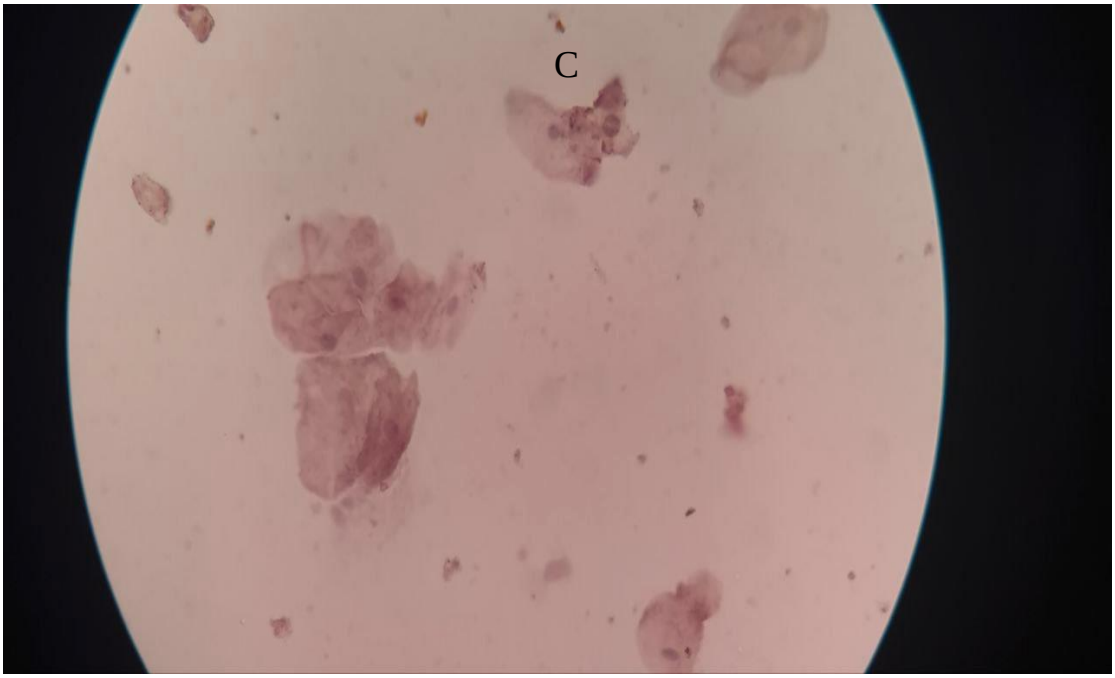




صـــورة (8) مسحه الخلايا من الغـــــشاء المخاطي الفموي في مدخنين صـــــيغه هيماتوكسلي وايوسين ع القوه X40







صـــورة (9) مســـحه الخلايا من الغشاء المخاطي الفموي في غير مـــدخنين صيغه هيماتوكسلي وايوسين ع القوه X40

2.4 المـناقشــة:

نقصان أعداد الخلايا في مسحة الخد لدى المدخنين هي ظاهرة تم توثيقها في العديد من الدراسات ويُعزى ذلك إلى التأثيرات السامة والمسرطنة لمكونات دخان التبغ على خلايا مخاطية الفم هذا يؤدي إلى قلة الخلايا القابلة للفصل أثناء أخذ المسحة. التأثير السام المباشر لمكونات التبغ مثل النيكوتين والقطران والمواد الكيميائية الأخرى الموجودة في دخان السجائر يؤدي إلى تلف الخلايا أو تحفيز عملية الموت الخلوي المبرمج .(**Apoptosis**) هذا التأثير يسبب انخفاضًا في عدد الخلايا القابلة للانفصال أو الجمع أثناء أخذ المسحات الخلوية مما قد يؤثر على جودة العينة ودقة التحاليل الخلوية.[Hecht, 2003].

يساهم التدخين بشكل مباشر في تحفيز الالتهاب المزمن في الغشاء المخاطي للفم مما يؤدي إلى حدوث تغيّرات نسيجية مثل **فرط التقرن** وتكثف الطبقة السطحية للظهارة هذه التغيرات تؤدي إلى زيادة تماسك الخلايا مع السطح الظهاري مما يصعّب فصل الخلايا أثناء جمع مسحات الخد وبالتالي قد يؤثر سلبًا على جودة العينة المستخدمة في الفحوصات الخلوية كما تشير الدراسات إلى أن هذا التأثير يزداد مع شدة ومدة التعرض لدخان التبغ.[Villa, A. 2011]

انخفاض معدل التكاثر الخلوي في بعض الحالات يقلل من انقسام الخلايا نتيجة للتعرض المزمن للمواد المؤذية. انخفاض معدل التكاثر الخلوي قد يحدث نتيجة للتعرض المزمن للمواد الكيميائية السامة، الإشعاع، أو الملوثات البيئية. هذه المواد قد تُحدث تلفًا في الحمض النووي أو تؤثر على الآليات الخلوية التي تنظم دورة الخلية، مما يؤدي إلى تباطؤ أو توقف الانقسام الخلوي. المواد المؤذية قد تسبب طفرات أو كسور في الحمض النووي، مما يدفع الخلية إلى الدخول في طور توقف دائم (**senescence**) أو الموت الخلوي المبرمج بدلاً من الانقسام. بعض المواد تؤثر على البروتينات المنظمة لدورة الخلية مثل **Cyclins** و **CDKs** مما يؤدي إلى توقف الانقسام. كما أن هذه المواد قد تزيد من إنتاج الجذور الحرة، مما يؤدي إلى تلف في مكونات الخلية وانخفاض القدرة على الانقسام.[Klaunig, J.E. 2004; Schwarzenbach, 200]

زيادة موت الخلايا أو تحللها قبل جمع العينة تؤثر سلبًا على جودة العينة ودقة التشخيص. عندما تموت الخلايا أو تتحلل، تصبح هشة وقد تتفتت أثناء جمع العينة، مما يؤدي إلى صعوبة في التقاطها وتحليلها بشكل صحيح. عند تحلل الخلايا، تتفكك مكوناتها الداخلية، مما يؤدي إلى فقدان البنية الخلوية اللازمة للتشخيص الدقيق، وهذا يمكن أن يؤدي إلى نتائج سلبية كاذبة أو غير دقيقة. تحلل الخلايا يمكن أن يؤدي إلى تدهور الحمض النووي (**DNA**) والحمض النووي الريبي (**RNA**)، مما يؤثر على دقة التحاليل الجزيئية مثل اختبار **PD-L1** في سرطان الرئة. وللحفاظ على جودة العينة، يجب جمع العينة في أقرب وقت ممكن بعد الوفاة أو التحلل لتقليل تأثير التغيرات الخلوية. كما أن التخزين المناسب في درجات حرارة منخفضة مثل (التبريد) يمكن أن يبطئ من عملية التحلل ويحافظ على جودة الخلايا إضافة مواد حافظة مناسبة يمكن أن تساعد في تثبيت الخلايا ومنع تحللها قبل التحليل.[Vigliar, E. 2021]

أظهرت دراسة نُشرت في مجلة Frontiers in Medicine أن جودة العينة الخلوية تتأثر بعوامل ما قبل التحليل مثل نوع العينة وطريقة جمعها مما يؤثر على دقة اختبار PD-L1 في سرطان الرئة كما أن مقالة في Thermo Fisher Scientific تشير إلى أن تحلل الخلايا يؤدي

إلى إطلاق إنزيمات داخلية يمكن أن تفسد البروتينات والمواد الجينية، مما يؤثر على نتائج التحاليل. وأوصى موقع **eClinPath** بتخزين العينات السائلة في الثلاجة مع عبوات ثلج للحفاظ على الخلايا ومنع تحللها قبل التحليل.

نقص عدد الخلايا في العينات الخلوية يُعتبر علامة خطر مبكرة لاحتمالات وجود تغيّرات نسيجية قد تتطور إلى السرطان، مثل التقرن وخلل التنسج، خاصة في سياق تأثيرات التدخين المزمن على الخلايا. هذه الظاهرة تشير إلى ضرر خلوي مزمن غالبًا ما يكون نتيجة عوامل بيئية مثل التدخين، وترتبط بتغيرات قبل سرطانية مثل فرط التقرن، وخلل التنسج الذي يتمثل في تغيرات غير طبيعية في حجم وشكل وترتيب الخلايا. يُعد ذلك إنذارًا مبكرًا لإمكانية تطور سرطان في المستقبل، مثل سرطان الفم أو الرئة. كما تؤثر هذه التغيرات على جودة التشخيص الخلوي، حيث قد تؤدي إلى صعوبة في التمييز بين الخلايا السليمة والمتحورة، مما يستدعي أخذ مسحات إضافية ومتابعة متكررة باستخدام تقنيات فحص تكميلية مثل الفحص الخلوي المتقدم، واختبارات البيولوجيا الجزيئية للكشف عن طفرات محددة، والخزعات النسيجية إذا لزم الأمر [El-Naggar, A.K. 2023].

الـــــفصل الخـــامس

الاستنتاجات و التوصيات

Conclusions and recommendations

1.5 الاستنتاجات Conclusions

- **وجود فروق خلوية واضحة بين المدخنين وغير المدخنين:**

أظهرت النتائج أن العينات المأخوذة من المدخنين تحتوي على تغيّرات خلوية واضحة عند فحصها مجهريًا مقارنة بغير المدخنين، مما يشير إلى تأثير سلبي مباشر للتدخين على الخلايا الفموية.

- **التدخين يسبب تغيّرات في النواة والسيتوبلازم:**

باستخدام صبغتي الهيماتوكسيلين والإيوزين، لوحظت تغيّرات في حجم النواة، وكذلك في توزيع السيتوبلازم، مما يدل على حدوث تغيّرات مرضية أو قبل مرضية في الخلايا.

- **إمكانية استخدام الفحص الخلوي كأداة للكشف المبكر:**

تؤكد الدراسة أهمية الفحص المجهري في الخلايا الفموية كأداة فعالة للكشف المبكر عن التغيرات الناتجة عن التدخين، والتي قد تتطور إلى حالات سرطانية إن لم تُكتشف مبكرًا.

- **خطورة التدخين حتى في الأعمار الصغيرة:**

بما أن الفئة العمرية للعينة تراوح بين 18 إلى 30 سنة، فإن ظهور هذه التغيرات الخلوية في هذه المرحلة العمرية يعكس مدى خطورة التدخين حتى على الأفراد صغار السن.

- **يسبب نقصان في إعداد الخلايا في المسحة المأخوذة من مدخنين:**

الظاهرة ناتجة عن العديد من العوامل مثل التأثيرات السامة والمسرطنة لمكونات الدخان التي تؤثر على خلايا مخاطية الفم.

2.4 التوصيات:

1. **التوعية بمخاطر التدخين على صحة الفم** وخصوصًا التأثيرات الخلوية غير المرئية التي قد تسبق ظهور الأعراض السريرية، من خلال برامج صحية موجهة للشباب والمجتمع.
2. **تشجيع الفحص الدوري باستخدام المسحات الفموية** لدى المدخنين المزمنين، كوسيلة للكشف المبكر عن التغيرات الخلوية الخطيرة، قبل تطورها إلى حالات سرطانية.
3. **الاهتمام بجمع العينات الفموية بطريقة صحيحة وسريعة،** مع مراعاة ظروف التخزين والتثبيت المناسبة لضمان دقة النتائج المخبرية.
4. **ضرورة تدريب الكوادر الصحية** على تقنيات أخذ المسحات الفموية وتحليلها، ورفع كفاءتهم في تفسير المؤشرات الخلوية المرتبطة بالتدخين.

5. **إجراء دراسات موسعة مستقبلًا** تشمل شرائح عمرية ومجتمعية أكبر، لفهم أعمق للعلاقة بين التدخين وتنوع التغيرات الخلوية والنسيجية في الفم.

6. **التوسع في استخدام الفحوصات الخلوية والمناعية والجزيئية** للكشف عن العلامات المبكرة للإصابة المحتملة بسرطان الفم، بما في ذلك مؤشرات مثل نسبة النواة إلى السيتوبلازم، وظهور النوى الدقيقة، والتحولات الجينية.

المصادر:

1. Allen, T., et al. (2024). *Oral Smear: An Early Detection Tool for Oral Cancer in Smokers*. Cancer Prevention Research, 17(1), 56–64.
2. American Dental Association (ADA). *Smoking and Tobacco Cessation*. ADA Website.
3. Auerbach, O. et al. (1979). *Changes in the bronchial epithelium in relation to smoking and cancer*. The New England Journal of Medicine, 300(8), 381–385.
4. Barbour, S. E., et al. (2008). *The effects of smoking on oral immunity and bacterial flora*. Oral Health Journal, 56(4), 456–462.
5. Bergström, J. (2004). *Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease*. Odontology, 92(1), 1–8. https://doi.org/10.1007/s10266-004-0043-4
6. Blot, W. J., et al. (1988). *Tobacco and alcohol in the etiology of oral and pharyngeal cancer*. New England Journal of Medicine, 298(15), 745–749. https://doi.org/10.1056/NEJM198804143181503
7. Brown, T., & Harris, M. (2016). *Keratinocytes and Their Role in Oral Pathogenesis*. Oral Medicine and Pathology, 30(3), 102–109.
8. Campisi, J., & d'Adda di Fagagna, F. (2007). *Cellular senescence: when bad things happen to good cells*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 8(9), 729–740.
9. Caramori, G. et al. (2004). *Inflammation in chronic obstructive pulmonary disease*. Current Drug Targets: Inflammation and Allergy.
10. Chang, S., et al. (2023). *Smoking and Oral Cancer: A Comprehensive Review*. Oral Health and Cancer, 29(5), 410–419.
11. El-Naggar, A. K. (2023). *[Exact title not provided]*.

12. Evans, D., et al. (2017). *Changes in Oral Mucosal Cells due to Smoking*. Journal of Clinical Oral Pathology, 25(4), 74–81.

13. Green, D., et al. (2021). *The Impact of Smoking on Oral Health: A Longitudinal Study*. Journal of Oral Pathology and Medicine, 43(4), 278–285.

14. Hecht, S. S. (2003). *Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer*. Nature Reviews Cancer, 3(10), 733–744. https://doi.org/10.1038/nrc1190

15. Johnson, G. K., & Hill, M. (2004). *Cigarette smoking and the periodontal patient*. Journal of Periodontology.

16. Johnson, P., et al. (2018). *Cellular Changes in Smokers: Implications for Oral Cancer*. Oral Oncology, 42(8), 567–573.

17. Johnson, P., et al. (2020). *Oral smear: An effective diagnostic tool for detecting early oral cancer in smokers*. Oral Cancer Journal, 26(3), 210–218.

18. Klaunig, J. E., & Kamendulis, L. M. (2004). *The role of oxidative stress in carcinogenesis*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 44, 239–267.

19. Lee, H., & Kim, Y. (2022). *Basal Cell Damage in Smokers: Effects on Oral Mucosa*. Journal of Dental Research, 101(9), 822–828.

20. Martinez, L., et al. (2019). *Oral Smear as a Diagnostic Tool in Detecting Early Oral Cancer*. International Journal of Oral Science, 11(2), 154–161.

21. Park, S. H., & Lee, K. Y. (2011). *Chronic exposure to nicotine induces apoptosis in oral epithelial cells*. Toxicology in Vitro, 25(7), 1445–1452.

22. Pfeifer, G. P., et al. (2002). *Tobacco smoke carcinogens and DNA damage*. Oncogene.

23. Qiu, F. et al. (2007). *Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down?* Oncotarget.

24. Rahman, I., & Adcock, I. M. (2006). *Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD*. European Respiratory Journal.

25. Reibel, J. (2003). *Tobacco and oral diseases. Update on the evidence, with recommendations*. https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2003.00193.x

26. Roosaar, A., et al. (2006). *A study on the prevalence of oral mucosal lesions in smokers*. Journal of Oral Pathology & Medicine, 35(7), 386–391.

27. Schwarzenbach, H., et al. (2009). *Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients*. Nature Reviews Cancer, 11(6), 426–437.

28. Scott, J. H., et al. (2006). *Smoking and oral disease: The immune system and beyond*. Journal of Periodontology, 77(5), 782–789.

29. Seymour, R. M., et al. (2007). *The effects of smoking on oral health: A review of the literature*. Journal of Dental Research, 85(6), 533–540.

30. Smith, J., et al. (2015). *Effects of Smoking on Oral Health: A Review of the Literature*. Journal of Dental Research, 45(6), 325–332.

31. Sopori, M. (2002). *Effects of cigarette smoke on the immune system*. Nature Reviews Immunology, 2(5), 372–377. https://doi.org/10.1038/nri803

32. Talhout, R. et al. (2011). *Hazardous compounds in tobacco smoke*. International Journal of Environmental Research and Public Health.

33. U.S. Department of Health and Human Services. (2010). *How Tobacco Smoke Causes Disease*.

34. Villa, A., & Abati, S. (2011). *Risk factors and evaluation of oral potentially malignant disorders*. Oral Oncology, 47(1), 19–23.

35. Walley, S. C., et al. (2019). *A Public Health Crisis: Electronic Cigarettes, Vape, and JUUL*. Pediatrics, 143(6). https://doi.org/10.1542/peds.2018-3416

36. White, R., et al. (2020). *Inflammatory Response to Smoking and Its Role in Oral Diseases*. Journal of Periodontology, 91(7), 889–896.

37. Wiencke, J. K. et al. (1999). *Gene silencing and DNA methylation in lung cancer*. Environmental Health Perspectives.

38. World Health Organization. (2022). *Tobacco*. WHO Website.

39. Zhou, X., et al. (2016). *Effects of smoking on oral mucosal cells and immune response*. Journal of Clinical Oral Pathology, 34(2), 110–115.