مجلة جامعة دمشق للعلوم الطبية المجلد: (41) العدد: 1 (2025) الصفحات: (95-108)

معالجة اصابة بسرطان الجلد باستعمال طعوم الغشاء الامنيوسي الجاف والمعقم بالأشعة (الامنيوغرافت)

محفوظ مصطفى البشير *[1]، وائل عبد المحسن البرازي [2]، اسلام احمد المسلماني[3]

*[1] مدير بحوث في قسم تكنولوجيا الاشعاع، هيئة الطاقة الذرية السورية.

[2] رئيس شعبة الحروق والجراحة التجميلية في مشفى المجتهد (دمشق).

[3]طالبة في كلية الطب في جامعة دمشق وطبيبة مقيمة في شعبة الحروق والجراحة التجميلية في مشفى المجتهد (دمشق).

الملخص:

يحتل سرطان الجلد المرتبة الخامسة بين نماذج السرطان الاخرى التي تصيب الانسان، ويدرج، كباقي انواع السرطان، ضمن الحالات المرضية المستعصية على العلاج. وعليه فقد كان الهدف من هذه الدراسة اختبار امكانية استخدام طعوم الغشاء الامنيوسي البشري الجاف (الامنيوغرافت) المحضرة محليا في هيئة الطاقة الذرية في معالجة حالة اصابة بإحدى نماذج سرطان الجلد المسمى بسرطان الخلايا الحرشفية (الخلايا الشائكية (Squamous cell carcinoma (SCC) ، بإجراء عمل جراحي لاستئصال الورم، ومن ثم تنفيذ عملية تطعيم مركبة، بزرع جلد منقول من منطقة الفخذ وتطبيق طعم من الامنيوغرافت، ليتم بعد ذلك اختبار تأثير الامنيوغرافت المستعمل كطعم داعم في شفاء وترميم الجرح الناتج عن العمل الجراحي، وتعويض الضياع الجلدي الناتج عن عملية الاستئصال، ومعالجة الحالة السرطانية، ومتابعة الحالة للتحقق من الشفاء ومنع اعادة ظهور الخلايا السرطانية وانتشارها من جديد، معولين على ما يتمتع فيه هذا المستحضر الطبي (الامنيوغرافت)، الفريد من نوعه من خصائص ومواصفات حيوية، واحتوائه على خلايا جذعية، وخلايا ميزانشيمية Mesenchymal cells، وامتلاكه لعوامل محرضة على النمو وعوامل كابحة للسرطان. بينت نتائج هذا العمل الجراحي وجود تأثير علاجي ايجابي لاستخدام الامنيوغرافت في تسريع الشفاء، وتقليص فترة العلاج، وخفض شدة الالم، وترميم الاجزاء المتضررة، وتعويض الضياعات الجلدية، ومن المتوقع ان يكون لاستعماله دورا ايجابيا في قتل الخلايا السرطانية، ومنع انتشارها بما يملكه الامنيوغرافت من خصائص ومواصفات تؤهله للعب هذا الدور. ويحتاج التحقق من هذه الفرضية متابعة الحالة موضوع الدراسة وتنفيذ المزيد من الاعمال في هذا السياق.

الكلمات المفتاحية: الغشاء الامنيوسي البشري، خصائص الغشاء الامنيوسي، الامنيوغرافت، سرطان الجلد.

تاريخ الإيداع: 2024/7/8 تاريخ القبول: 2024/7/31

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب **CC BY-NC-SA**

ISSN: 2789-7214 (online)

http://journal.damascusuniversity.edu.sy

Skin cancer treatment by by using dried and gamma irradiation sterilized Amniotic membrane (AmnioGraft)

Mahfouz Mustafa Al-Bachir[*1], Wael Abdulmohsen Albarazi[2], Eslam Ahmad Almeslamani[3]

[1*] Radiation Technology Dept., Syrian Atomic Energy Commission, Damascus, Syria.
[2] Dept. of plastic and burn surgery, Damascus hospital, Damascus, Syria.
[3] A student at the Faculty of Medicine at Damascus University and a resident physician in the Burns and Plastic Surgery Department at Al-Mujtahid Hospital (Damascus).

Abstract:

Skin cancer is most common diagnosed cancer in the world. Cancer is leading cause of death worldwide. The main porpuse of this study was to evaluste the AmnioGraft as domestic products for healing case of squamous cell carcinoma (SCC), by curative surgery removes the cancerous tumor grputh from the skin. The wide spread and deep degree of wound healing process on post-operation was conducted by covering the damaged area by lyer of skinfold obtained from the groin area. Followed by by covering the damaged area of the skin by AmnioGraft, for enhancing healing of the wound compensation of skin and tissue losses resulting from surgery treatment and healing the cancer, and fellow up the case to verify the complate wound healing and inhibiting growth and spread cell cancer, due to uique biochemical properties and characteristics of amniotic membrane, including owning the stem cells, Mesenchymal stem cells (MSCs), and growth and anticancer factors. The results of this study indicated that, the use of AmnioGraft for skic cancer can be considered highly effective to improve the healing of woundsm compensation of skin and tissue losses. Suggesting that application of Amniograft could be effective way for inhibiting growth and spread of cell cancer, due to its properties and characteristics. Our recommendation to verify this hypothesis is to fallow up on the case of this study and cary out further scientific work in this context.

Keywords: Amniotic membrane, Amniotic membrane properties, AmnioGraft, Skin cancer.

Submitted: 8/7/2024 Accepted: 31/7/2024
Copyright: Damascus University Syria.
The authors retain copyright under CC BY-NC-SA

المقدمة:

يعد الجلد اكبر عضو من اعضاء جسم الانسان، الذي يقوم بحماية الجسم من الاضرار الميكانيكية ومن اضرار العوامل الخارجية، ويقي من تداعيات غزو الكائنات الحية الممرضة، ويعمل الجلد على تنظيم التبادل الحراري وضبط درجة حرارة الجسم، والحفاظ على توازن السوائل (Li *et al.*, 2019). يتعرض الجلد باعتباره على تماس مباشر مع المحيط الخارجي ويتفاعل مع الظروف البيئية السائدة في محيط الجسم، الى عدد من الاضرار العرضية والتي من اهمها الحروق والجروح والتقرحات.... والتي ينتج عنها فقد كلي او جزئي في الجلد، وقصور في الدور الوظيفي الذي يؤديه (Markiewicz-Gspodarek *et al.*, 2022).

يعد مرض السرطان من اهم الامراض المنتشرة في ارجاء المعمورة، والذي يتسبب، في اغلب الاحيان بالموت (Jafri *et al.*, 2020)، ويقدر عدد حالات الوفاة الناتجة عن الاصابة بامراض السرطان سنويا حسب المعطيات الاحصائية للهيئة الدولية لبحوث السرطان International commassion cancer research (ICCR) بحوالي 9.6 مليون حالة في عام 2018، وقدر عدد حالات الاصابة بالسرطان في نفس العام بحوالي 18.1 مليون اصابة. وحسب تقارير منظمة الصحة العالمية World health organization (WHO) فان من كل 6 حالات وفاة طبيعية هناك حالة واحدة على الاقل سببها الاصابة بمرض السرطان (Hossain *et al.*, 2019)، وياتي سرطان الجلد في المرتبة الخامسة بين انواع السرطان الاخرى الاكثر شيوعا في العالم. يظهر سرطان الجلد كنمو غير طبيعي في خلايا الجلد، وبشكل خاص في الاجزاء الاكثر تعرضا لاشعة الشمس، وقد يظهر احيانا في المواقع والاجزاء الاقل تعرضا لاشعة الشمس(Hasan *et al.*, 2023) .

يعد سرطان الجلد من الحالات المرضية المستعصية على العلاج، ويشار في الادبيات العلمية الى وجود ثلاثة انواع رئيسية من سرطان الجلد، وتشمل سرطان الخلايا القاعدية Basic cell carcinoma (BCC) وسرطان الخلايا الحرشفية (الخلايا الشائكية) Squamous cell carcinoma (SCC)، وسرطان الخلايا الصبغية (سرطان الجلد الميلاميني) Melanoma، وهناك انواع اخرى من سرطانات الجلد الاقل شيوعا كالساركوما كابوزي Kaposi sarcoma وسرطان خلايا ميركل Merkel cell carcinoma وسرطان الغدد الشحمية (Kaur and Kesharwani, 2021; Dildar *et al.*, 2021).

يظهر سرطان الخلايا الحرشفية (SCC) على الاغلب في المناطق المعرضة لاشعة الشمس من الجلد، كالرقبة والوجه واليدين بشكل لؤلؤي او شمعي او كافة مسطحة بلون الجلد، او قد تظهر على شكل ندبة بلون بني او كقرحة نازفة او قشرة تلتم ثم تعود مرة اخرى (Madheswaran *et al.*, 2017).

تختلف خيارات علاج مرض سرطان الجلد باختلاف مكان وحجم وطبيعة وعمق الاصابة (الافه)، وقد لايتطلب الامر عند الكشف المبكر عن الاصابة علاجا اكثر من عمل جراحي لاستئصال النمو السرطاني بالكامل. وقد يتطلب الامر، في المراحل المتقدمة، علاجا اضافيا بعد الجراحة الاستئصالية، يتمثل في العلاج الاشعاعي ، او العلاج الكيميائي، او العلاج الحيوي باستخدام مايساعد على تقوية الجهاز المناعي لقتل الخلايا السرطانية (Damyanove *et al.*, 2018)

يشار في الادبيات العلمية الى وجود اثار جانبية سلبية لاستخدام الجراحة التقليدية في معالجة السرطان، والذي يستدعي بالضرورة البحث في امكانية التقليل ما امكن من هذه الاثار الجانيه او البحث عن بديل لهذه الوسائل العلاجية التقليدية (Krishnamoorthy and Prabhu *et al.*, 2011).

ومن البدائل المطروحة والاستراتيجيات الجديدة في علاج السرطان، استخدام المستحضرات الحيوية التي يدخل في تركيبها الخلايا الجذعية بما تتمتع فيه هذه المستحضرات من خصائص تتمثل في امكانية قتل الخلايا السرطانية والحد من انتشارها (Hossan *et al.*, 2019; Jafari *et al.*, 2021/b).

حيث اشير الى امكانية الحد من التخريب الحاصل في الدم والجهاز المناعي كنتيجة لتطبيق العلاج الكيميائي والعلاج الاشعاعي باستخدام الخلايا الجذعية (Sarga *et al.*, 2007).

اشارت نتائج الدراسات المنفذة خارج الكائن الحي In vitro، الى فوائد استخدام الغشاء الامنيوسي في معالجة السرطان، بالاستفاده من الخصائص التي يتمتع فيها هذا الغشاء، وتناولت الدراسات المنفذة في هذا المجال، تقييم قدرة الغشاء الامنيوسي على قتل الخلايا السرطانية، واختبار خصائص طعوم الغشاء الامنيوسي المؤثره في منع تشكل الخلايا السرطانية. حيث بينت نتائج هذه الدراسات وجود تاثير للمعالجة بغشاء امنيوسي طري، او مجمد، او حتى جاف، في قدرد الخلايا السرطانية المزروعة في البقاء على قيد الحياة، وفي قدرة الغشاء الامنيوسي على خفض تاثير العوامل المسرطنة. وتعد نتائج الاعمال العلمية المنفذة خارج الكائن الحي، بدايات واعدة ومبشرة في امكانية استخدام طعوم الغشاء الامنيوسي في معالجة الامراض السرطانية (Modaresifar *et al.*, 2017). وربما يعود دور الغشاء الامنيوسي الايجابي والواعد في معالجة الاورام السرطانية الى غنى الغشاء الامنيوسي بالخلايا الجذعية الميزانشيمية Mesenchymal stem cells (MSCs) التي تشكل عامل كبح لنمو وتطور الاورام السرطانية (Volarevic *et al.*, 2018; Chulpanova *et al.*, 2018)

يهدف هذا العمل الى اختبار امكانية استخدام طعوم الغشاء الامنيوسي البشري (الامنيوغرات) المحضر والمعقم باشعة غاما في وحدة انتاج طعوم الغشاء الامنيوسي في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، في معالجة احدى حالات الاصابة بسرطان شائكة الخلايا في جلد اليد باجراء عمل جراحي لاستئصال الجزء المصاب ومن ثم استخدام الجلد والامنيوغرافت كطعم مركب لترميم الجزء المزال من الجلد، ومتابعة تاثير التطعيم بالامنيوغرافت على منع إعادة نمو الخلايا السرطانية، واعتماد بروتوكول يتضمن كيفية استخدام الامنيوغرافت في التطعيم الجلدي وترميم الاجزاء المتضررة من سطح الجلد كنتيجة لاستئصال الكتل السرطانية.

المواد وطريقة العمل:

تشخيص الحالة وتصميم الدراسة:

نفذت هذه الدراسة خلال عام 2023 في مستشفى العباسيين في دمشق على مريض ذكر يبلغ من العمر 72 عام يتمتع ببشرة بيضاء، مصاب بسرطان شائكة الخلايا (الخلايا الحرشفيه) (SCC) في اليد اليسرى بمساحة تقدر بحوالي 1% من سطح الجلد، وبينت نتائج التحري الصحي السابق للمريض انه مصاب بالتهاب مفاصل (روماتيزم – داء رثياني)، معالج سابقا بتناول ادوية مزمنة (دائمة) ومنذ 7 سنوات، ومن الادوية التي يتعاطاها المريض: البريدالون عيار 10 مغ Predalone 10 mg، والـ اولكاتون عيار 25 مغ Olcatone 25 mg والكارفيدول عيار 3.125 Carvedol 3.125 mg و روفالترو عيار 10 مغ Rovalto 10 mg و ادينوكسات عيار 40مغ Adinoxat 40 mg واتروفانت عيار 10 مغ Atrovent 10 mg وتوريسبوت عيار 10 مغ Torespot 10 mg وكالدي ميت Caldy vit و اوميغا 5 مغ Omega 5 mg وغلوكوزامين غولد Glucosamine gold،

بينت نتائج الاختبارات السريرية المنفذة وجود كتلة غير متجانسة الاشارة، وغير واضحة الحدود، تقيس حوالي 60 X 17 X 7 مم، ممتدده من الحالة الوحشية للابهام مقابل السنع الاول وعلى الوجه الظهري لليد مقابل السنع الثاني والثالث والنصف الوحشية للسنع الرابع ترتشح بالنسيج الشحمي تحت الجلد وتلامس وتر العضلة الباسطة للرسغ الكعبرية والحدود الخلفية غير واضحة والنسيج الشحمي غير قابل للتمايز مما يرجح وجود ارتشاح جزئي، وبينت نتائج الدراسة النسيجية ان حجم الكتلة المستاصلة هو 10 X 6.5 X 2 سم، ومصابة بسرطان الخلايا الشائكة (SCC) وتم اعتماد دليل هذه الدراسة

من قبل لجنة اخلاقيات البحث العلمي في هيئة الطاقة الذرية السورية، وتم تنفيذها وفقا للدليل المقترح في تصريح هلسنكي الصادر عن الاتحاد الطبي العالمي Helsinki declaration of the world medical association،

الاختبارات السريرية والتحاليل المخبرية ومؤشرات الشفاء:

تم تنفيذ كافة الاختبارات السريرية، والتحاليل المخبرية المطلوب انجازها لاي حالة اسعافية تصل الى المشفى، وتم تسجيل وتوثيق كافة البيانات الشخصية، ونتائج التحاليل المخبرية والاختبارات السريرية المعتمدة لمثل هذه الحالات في المشفى، تمهيدا لمباشرة البدء بتنفيذ عملية المعالجة المتضمنه استئصال الورم وتنفيذ التطعيم المركب (جلد + امنيوغرافت) وفقا للبرتوكول المعد من قبل الطبيب المنفذ للعمل الجراحي في مشفى العباسيين الجراحي، حيث تم تقدير التعداد العام للكريات البيض Weight blood cells (WBCs)، وخضاب الدم Hemoglobin (Hb)، وسرعة تثفل الدم erythrocyte sedimentation rate (ESR) وتقدير البرتين الارتكاسي c reactive protein (CRP)، وتم اجراء تصوير بالرنين المغناطيسي magnetic resonance للمعصم ومشط اليد اليسرى، وتصوير طبقي محوري مساعد CT scan.

تحضير الامنيوغرافت:

تم تحضير الامنيوغرافت من غشاء امنيوسي بشري تم قطفه من قبل فريق طبي مدرب، ومن مشيمة ناتجة عن ولادة قيصرية في احدى المشافي الحكومية. بعد التحري عن الام المانح للتاكد من خلوها من اي محدد من محددات التبرع بشكل عام، وعدم اصابتها باي مرض من الامراض المعدية، او حملها لاي عامل يمكن ان يتسبب في نقل اي مرض من الامراض المعدية، المحتمل انتقالها مع الجزء المتبرع فيه، والمتمثلة في فيروس نقص المناعة (الايدز) Human immunodeficiency virus (HIV) وفيروسات التهاب الكبد Hepatitis viruses (Nouri *et al.*, 2018) وبعد الحصول على موافقة الام المانح للغشاء الامنيوسي.

نقل الغشاء الامنيوسي الخام من مشفى التوليد (حيث تم قطفه) الى وحدة الانتاج في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، حسب اجراء النقل المعتمد من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الامنيوسي والموثق في مكتب ضمان الجودة في الهيئة، ليتم في الوحدة التحقق من الصلاحية الميكانيكية والبيولوجية لاستخدامة في تحضير الطعوم، وبعد التحقق من الصلاحية فقد تم تحضير الامنيوغرافت وتغليفة بالمواصفات القياسية المعتمدة، وحسب متطلبات الترخيص الصادر عن وزارة الصحة، ومن ثم تعقيمه باشعة غاما الصادره عن النظير المشع كوبالت 60 وبالجرعة الاشعاعية الموصى فيها من قبل المنظمات العالمية المختصة (منظمة الصحة العالمية والوكالة الدولية للطاقة الذرية)، وحسب معايير ضبط الجودة المعتمدة من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الامنيوسي، والموثقة في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية، ووفقا للطرائق المعيارية المدونة في المراجع العلمية، والمعتمدة من قبل المنظمات الدولية ذات الصلة، والمعمول فيها في الدول الاكثر تطورا (Herndon and Branski 2017; Phillips and Morales, 2003).

طريقة العلاج في الامنيوغرافت :

تم اجراء العمل الجراحي في مشفى العباسيين والذي تضمن استئصال الافه وصولا الى سماكة تقدر بحوالي 1.5 سم مع هامش امان (الشكل 1)، وتم قطع الوتر المصاب (وتر العضلة الكعبرية الباسطة) (الشكل 1–ب)، وارقاء المنطقة وترميمها بطعم تم الحصول عليه من منطقة الفخذ، وتغطية الجزء المصاب بضماد رطب من شاش الفوسفيدين والبوفيدون والتثبيت برباط ضاغط (الشكل1). تم ازالة الضماد بعد مرور5ايام ليتم بعدها المباشرة باستخدام الامنيوغرافت وفقا لما ورد في البرتوكول المطبق في شعبة الحروق والجراحة التجميلية في مشفى المجتهد (دمشق)، حيث تم تحرير طعم الغشاء الامنيوسي المثبت على فيلم والموجود ضمن غلافين بعناية وفي مكان سبق تعقيمه،

وباستعمال مقص معقم، وازالة طبقة البولي اثلين واخراج الطعم المثبت على طبق صغير اوحامل من البولي اثيلين باستعمال قفازات معقمة للمحافظة على مستوى عقامة الطعم، ولضمان عدم اعادة تلوثه من جديد. تم غسل المكان المراد معالجتة بشكل جيد بالبوفيدون ايودين Povidone Iodine، ومن ثم الغسل الجيد بالسيروم الملحي Sakine solution، وتنشيف المكان المنظف بالغسل وازالة الرطوبة بشكل كامل، ومن ثم تم ترطيب الغشاء الجاف بسكب عدة نقاط من محلول ملحي أوسكري أوماء مقطر معقم (0.5–2 مل)، الى الغشاء الامنيوسي المثبت على الحامل لترطيبه بما يحقق سهولة تطبيقه على المكان المراد علاجه، وضمان سهولة التعامل معه، مع الحرص على استعمال ابرة حقن معقمة. وتمييز السطح الخارجي للغشاء والذي يعد بمثابة الوجه المقابل للجنين، وهو الوجه الذي سيلامس الجزء المراد معالجته، وتغطيته بشاش محمل بالفوسفيد اوشاش مفزلن، ومراهم، وأخيرا وضع شاش معقم وتثبيته برباط من الشاش. (الشكل 1).

المراقبة والمتابعة:

تم تنفيذ كافة الاختبارات السريرية لمراقبة تطور الشفاء باخذ صور من كمرة رقمية مركبة على موبايل (ايفون 13 برو ماكس iphone 13 pro Max)، ومقارنة تطور ترميم النسيج المتضررة كنتيجة للتطعيم الجلدي واضافة طبقة من الامنيوغرافت على كامل الجزء المتضرر من تنفيذ العمل الجراحي. معتمدين عدة مؤشرات سريرية في تحديد درجة تطور الحالة ومستوى الشفاء، كدرجة الجفاف، وتغير لون الجزء المنفذ له العمل الجراحي، وعدد الطعوم المستعملة، والاحساس بالالم وتطور هذا الاحساس في كل مرحلة من مراحل التطعيم، ومستوى التنميل والحكة التي يشعر فيها المريض، وشعور المريض بالراحة الجسدية والارتياح النفسي، ومراقبة الترفع الحراري والاستجابة للسيتامول، وتغير قيم التعداد العام للكريات البيض (WBCs)، وتغير قيم البروتين الارتكاسي من النموذج س (CRP)، وتم اجراء هذه الاختبارات السريرية والتحاليل المخبرية والمراقبة الطبية دوريا، وحسب البروتوكول المعمول فيه في المشفى لمثل هذه الحالات.

الشكل (1): عملية استئصال ورم سرطاني من نوع خلايا حرشفيه (SCC) من اليد اليسرى وتطبيق طعم جلدي مع امنيوغرافت: (A). الحالة بعد استئصال الورم مباشرتا؛ (B). الحالة بعد قطع الوتر المصاب (وتر العضلة الكعبرية الباسطة)؛ (C). الحالة بعد تغطية الجزء المستاصل بطعم جلدي تم الحصول عليه من منطقة الفخذ؛ (D) الحالة بعد تطبيق الامنيوغرافت.

النتائج:

بينت نتائج متابعة الحالة المختبره، المتمثلة في ازالة افة سرطانية شائكة الخلايا (SCC) من الوجه الظهري لليد اليسرى لمريض بعمر 72 سنة يتمتع ببشرة بيضاء، بعمل جراحي تقليدي (استئصال الورم) وباستعمال طعم جلدي والامنيوغرافت كقيمة مضافة في العمل الجراحي، ان لاستعمال الامنيوغرافت تاثيرا معنويا في تسريع شفاء الجزء المزال من الجلد موضوع العلاج، ونجاح العمل الجراحي بتحقيق اهدافه، وترميم الضياع الناتج عن العمل الجراحي (الشكل 2). ونتج عن تطبيق الامنيو غرافت تخفيف الالم كنتيجه لدوره في عزل النهايات الحسية عن الوسط الخارجي. وكنتيجه لدوره في حماية السطح المعالج من التلوث الخارجي، واحتوائه على مركبات حيوية مضادة للميكروبات، وعلى مركبات مانعة لتشكل الندب ومركبات مانعة للتقرح. كما نتج عن تطبيق الامنيوغرافت سرعة في شفاء الجرح لاحتوائه على خلايا جذعية، وعلى خلايا بازانشيمية، وخلايا ثانوية شبه جذعية، وعلى مجموعة من المركبات والعوامل المشجعة للنمو. كما نتج عن تطبيق الامنيوغرافت ترميم الضياعات الجلدية باعتباره نسيج يشبة في بنيته التشريحية الجلد، ويمكن ان يعمل كعامل مساعد في الترميم وتعويض الضياع الجلدي، اضافة للطعم الجلدي المستخدم في العمل الجراحي.

واشارت نتائج مجمل التحاليل المخبرية الى تحسن الوضع الصحي للمريض، ويتوقع ان يكون لتطبيق الامنيوغرافت دورا ايجابيا في قتل بقايا الخلايا السرطانية لاحتوائه عل مواد تعمل كمضاد للسرطان ومن المتوقع ان يودي التطعيم بالامنيوغرافت الى تموت الخلايا السرطانية، والى الشفاء التام وازالة خطورة النكس ومنع عودة ظهور المرض من جديد. وسيتم متابعة هذه الحالة لاحقا للتحقق من استقرار الحالة الصحية للمريض وللتاكد من صحة هذه الافتراضات.

نتج عن المعالجة بالامنيوغرافت تحسن ملحوظ في الحالة الصحية للمريض وسرعة تماثلها للشفاء، بدلالة التحسن الملاحظ على الاجزاء المتضررة من العمل الجراحي وعودة الجلد الى شكله الطبيعي واستعادة القدرة على اداء دوره الوظيفي (الشكل 1)، وبدلالة المؤشرات المدروسة والمتمثلة في تخفيف شدة الالم، وبدلالة قيم نتائج التحاليل المخبرية المنفذة والمتمثلة في انخفاض عدد الكريات البيض، وانخفاض درجة حرارة الجسم.

الشكل(2): تطور الحالة الاستشفائية لسرطان جلد من نوع خلايا حرشفيه (SCC) بعد المعالجة بالاستئصال والتطعيم المضاعف (جلدي + امنيوغرافت): (A). الحالة بعد مرور 3 ايام على تطبيق الامنيوغرافت (B). الحالة بعد مرور 3 ايام على تطبيق الامنيوغرافت (C). الحالة بعد مرور 20 يوم على تطبيق الامنيوغرافت. (C). الحالة بعد مرور 30 يوم على تطبيق الامنيوغرافت.

المناقشة :

تضمن العمل الجراحي المنفذ في هذه الدراسة، استئصال ورم من اليد مع هامش امان، و قطع الوتر المصاب (وتر العضلة الكعبرية الباسطة) وارقاء المنطقة وترميمها بطعم جلدي تم الحصول عليه من منطقة الفخذ، واستخدام الامنيوغرافت، بهدف ترميم الجرح وتعويض الضياعات الناتجة عن عملية الاستئصال، وهو الاسلوب المتبع والمعمول فيه من قبل الاختصاصيين العاملين في هذا المجال من حيث استخدام طرق مركبة في التطعيم تعتمد على استخدام كل من الطعم الجلدي البشري والغشاء الامنيوسي البشري (Darwish *et al.,* 2022). واشارت نتائج الاعمال العلمية المنفذة في هذا المجال الى مساهمة الغشاء الامنيوسي في تسريع شفاء الجروح وتقصير فترة العلاج عند المقارنة باستعمال الوسائل التقليدية في العلاج (Darwish *et al.*, 2022).

بينت نتائج هذا العمل ان لتطبيق الامنيوغرافت تاثيرا ايجابيا في تسريع شفاء اليد المستاصل منها الافه السرطانية واعادة ترميم الاجزاء المتضرر،ة وتعويض الضياع الناتج عن عملية الاستصال، وتتفق هذه النتائج مع نتائج اعمال علمية تم التوصل اليها في غير مكان من العالم بشكل عام وفي الاماكن والبلدان التي بدات مبكرا في تطبيق الغشاء الامنيوسي البشري والتي تعود بداياتها الى عام 1910 (Davis, 1910)، ليتم بعدها التوسع في هذا المجال حيث تناولت الدراسات المنفذه خلال هذه الحقبه الزمنية امكانية استعمال الغشاء الامنيوسي كضماد بيولوجي طبيعي، لمعالجة الجروح عالميا، وتم نشر نتائج الاختبارات السريريه لهذه الاعمال في الادبيات العلمية. وسجل معدل شفاء الجروح والحروق بنسب تتراوح بين 77% و99%، بعد المعالجة بطعوم الغشاء الامنيوسي لمدة تتراوح بين 4 و6 اسابيع (Hawkins, 2016; Garwood and Steinberg, 2016; Sheikh *et al.*, 2013).

وعزي دور الامنيوغرافت في ترميم الاجزاء المتضررة، وتعويض الضياع الناتج عن عملية الاستئصال المنفذة في هذه الدراسة الى احتواء الامنيوغرافت على مركبات حيوية مساعدة في الترميم وتعويض الضياع الجلدي، وباعتبار ان الامنيوغرافت هو ضماد طبي محضر من غشاء امنيوسي بشري، فقد اشارت نتائج دراسات البنية التشريحية للغشاء الامنيوسي الى احتوائه على عدد كبير من الخلايا الجذعيه، وخلايا النسيج الاوسط (الخلايا الميزانشيمية) الضامه، وخلايا الظهاره Epithelial cells، والخلايا الجنينيه الشبيهة بالخلايا الجذعية ، والخلايا المولدة. وعلى تجمع ثانوي، من الخلايا المتعددة النشاط ، والتي يمكنها المساهمة في الترميم من وضعية عدم التمايز (Utheim *et al.,* 2018). يتميز الغشاء الامنيوسي البشري بغناه بالخلايا الميزانشيمية، ومصفوفة الكالوجين Collagen matrix وعوامل النمو والتي تعد جميعها من العوامل المساعدة على التوليد والترميم (Hortensius *et al.*, 2018). يعد امتلاك الغشاء الامنيوسي لميزة التاثير المضاد لتشكل الكتل الليمفاوية احد اهم دواعي استخدامه في المعالجات الطبية، وتعود هذه الميزه الى احتواء الغشاء الامنيوسي على مركبات كيميائية خاصة تلعب هذا الدور كالكولاجينات (Hossain *et al.,* 2019). وعليه فان استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي يساهم بشكل فعال في معالجة الاضرار الجلدية من خلال قدرته الكبيرة في المساعدة على التئام الجروح وترميم الاجزاء المتضررة وتعويض الضياعات الجلدية (Fitriani *et al.*, 2023)

وبينت نتائج الاعمال العلمية المنفذة في هذا المجال، امكانية استخدام الخلايا الجذعيه، في ترميم النسج المتضررة، وكانت الخلايا الجذعيه المزانشيمية (MSC)، من اكثر الخلايا المدروسة في هذا المجال، واشارت نتائج بعض الدراسات المنفذة على حيوانات التجربة، الى وجود نتائج سريريه مبشرة في هذا السياق (Pelizzo *et al.*, 2015; Hanson *et al.,* 2016; Doi *et al.*, 2016. Caliari-Oliveira *et al.*, 2016).

وكانت نتائج هذه الدراسات بمثابة القاعدة التي تم البناء عليها في اختبار امكانية استخدام طعوم الغشاء الامنيوسي في الجراحة العامة والجراحة البولية وجراحة العيون والجراحة التجميلية (Drogunova *et al.*, 2019). وتتميز الخلايا الميزانشيميه في الغشاء الامنيوسي لبشري بغناها بالبروتين الذي يساهم في عملية شفاء الجروح، وتوليد الاوعية وتمايز الخلايا والاستجابة المناعية وحركة الخلية (Ftriani *et al.*, 2023)

اشارت نتائج الاختبارات السريرية الى شعور المريض بتراجع شدة الالم عند استخدام الامنيوغرافت في المعالجة، والذي ربما يعود الى دوره الامنيوغرافت في عزل السطح المصاب من الجلد عن المحيط الخارجي والحد من تاثر النهايات العصبية والحسية المكشوفة بالعوامل الخارجية. وتؤكد هذه الملاحظات ماتم تدوينه في الادبيات العلمية من الدور الذي يلعبه استخدام الغشاء الامنيوسي في المعالجات الطبية من تخفيف لشدة الالم (Rocha and Baptista, 2015)

تم تطبيق الامنيوغرافت على مساحة من الجلد بعد ازالة ورم سرطاني مثبت خباثته بالتحاليل السريرية وبزراعة النسج، وكان الهدف من التطعيم بالامنيوغرافت اضافة الى ترميم وتعويض الضياع الجلدي، المساعدة في الشفاء من الافه السرطانية. حيث كانت نتائج الاختبارات السريرية الاولية مبشرة في هذا السياق، وسيتم متابعة الحالة الى فترة زمنية طويلة للتحقق من صحة هذه الفرضية.

بالرغم من الحقيقة المرة المتمثلة في ان الاصابة بالنموذج الخبيث من السرطان سيؤدي بالضرورة الى الموت الحتمي، الا ان الباحثين العلميين لم يدخروا جهدا في البحث عن حل جذري، الا ان هذه الجهود المبذولة حتى الان لم ينتج عنها حل مرضي لهذه المعضلة، وفي سياق البحث عن وسيلة لمكافحة السرطان فقد كان لاستخدام الغشاء الامنيوسي نصيبا من الاهتمام بما يتمتع فيه من خصائص ومواصفات يمكن استثمارها في هذا المجال

انجز العديد من الدراسات التي اختبرت امكانية استخدام الغشاء الامنيوسي في معالجة حالات الاصابة بالسرطان لما يتمتع فيه هذا المنتج الحيوي من خصائص يمكن ان تساهم في معالجة السرطان (Hossain *et al.*, 2019)

ومن بين انواع السرطانات التي اختبر امكانية معالجتها بالغشاء الامنيوسي؛ سرطان الثدي (Jafari *et al.*, 2021/c). واورام ملتحمة العين (Furdova *et al.*, 2023)، وسرطان المثانة (Janev *et al.*, 2023) وسرطان الكبد (Riede *et al.*, 2019). وسرطان الكولون (Bolouri *et al.*, 2022) وسرطان البروستات (Barski *et al.*, 2033)

ويشار في الادبيات العلمية الى احتواء الخلايا الميزانشيمية على خصائص مضادة لتشكل الاورام الخبيثة بسبب نشاطها المضاد للانتشار والذي ينتج عنه تموت الخلايا السرطانية، ومنع تشكل الاوعية الدموية (Jafari *et al.*, 2021). وتعمل الخلايا الميزانشيمية الموجودة في الغشاء الامنيوسي على حجز الخلايا السرطانية في المراحل الاولى من تطورها G0/G1 وعدم السماح لها بالتطور للوصول الى المراحل الاكثر تطورا S phase (Magatti *et al.*, 2012; Hossain *et al.*, 2019)

عناصر القوة في هذه الدراسة :

تعد هذه الدراسة من الحاولات الاولى من نوعها في هذا المجال التي تنفذ في سوريا ويمنحها ذلك عنصر قوة فريد من نوعه. وبتناول هذه الدراسة موضوع امكانية استخدام الامنيوغرافت في معالجة حالة سرطانية لشخص مصاب هو عنصر قوة اضافي، باعتبار ان اغلب الدراسات المنفذة في هذا المجال انما نفذت خارج الكلئن الحي وعلى نماذج اخرى من السرطان.

يعد استخدام طعوم الغشاء الامنيوسي في المعالجات الطبية المختلفة، بما في ذلك معالجة الجروح والحروق والتقرحات والاعتلالات العينيه، والمعالجات السنية....الخ، موضوع جديد في سورية، ويعد البدء باستخدامه في معالجة الحالات

المستعصية على العلاج في مجمل الحالات المدروسة بما في ذلك هذه الحالة، هو مصدر قوة لهذا العمل، وعنصر القوة الاهم في هذا العمل انما سيكون عند الحصول على نتائج ايجابة في معالجة هذه الحالات المستعصية وعندما يتم التحقق من الفرضية الموضوعة (وهي معالجة السرطان بالامنيوغرافت) والتي كانت اساسا لهذا العمل. ومن عناصر القوة التي تجدر الاشارة اليها في هذا السياق، هو استخدام اجرائات ضبط الجودة والمعايير الدولية في تنفيذ هذا العمل من المراحل الاولى في الانجاز والمتمثلة في الحصول على الغشاء الامنيوسي البشري الخام، الى تحضير الامنيوغرافت، الى تنفيذ العمل الجراحي. وربما ستكون النقطة الايجابية الاكثر اهمية في هذا العمل، هو عند الوصول الى التفاعل الايجابي التام مع المهتمين بهذا العمل والمعنيين بهذا النمط من العلاج، وعندما تجد هذه النتائج الصدى عند مجموعة الاطباء المحليين المختصين والمشهود لهم بالتميز والابداع، واللذين سيعقد عليهم الامل في التفنن في استخدام هذا المنتج المحلي في معالجة الحالات المستعصية على العلاج كل حسب اختصاصه.

نقاط الضعف في هذه الدراسة (المحددات):

ربما تكون نقطة الضعف الاساسية في هذا العمل هو انجازه على حالة فردية واحدة وافتقاده الى معرفة التكرارية، والذي نامل ان يتم تجاوزها عند التوسع الافقي في استخدام هذا المستحضر الطبي على شريحة واسعة من المرضى. وعليه لايمكن تعميم نتائج تم الحصول عليها من حالة فردية واحدة على المجتمع. وعدم وجود حالة الشاهد الذي يتم فيه المعالجة فقط بالطريقة التقليدية ليتم بعدها المقارنة مع نتائج تطبيق الاسلوب الجديد موضوع الدراسة (الامنيوغرافت) هي نقطة ضعف عامه في المعالجات الطبية. والتي تعود الى متطلبات اخلاقية تلزم الطبيب بتقديم كل المتاح من امكانيات العلاج للمريض وانقاذه، وتمنعه من ترك اي مريض بدون معالجة (كشاهد)، ولا حتى بمعالجته بوسائل تقليدية (قديمه) عند توفر الجديد لديه.

وربما تكون صعوبة متابعة المريض بعد تخريجه من تقاط الضعف لمثل هذه الدراسات، فالمريض المعالج لايقوم بمراجعة العيادة الطبية عند شعوره بالشفاء لاسباب ماديه او حتى نفسيه، وتقتصر المراجعة فقط على الحالات التي تكون نتائجها سلبية ولم ينتج عنها الشفاء التام، او عند شعور المريض بوجود حاجة لمزيد من المعالجة او للاطمئنان.

الاستنتاجات:

باستعراض النتائج الاولية التي خلص اليها هذا العمل يمكن الاستنتاج بامكانية استخدام الامنيوغرافت في معالجة الاضرار الجراحية الناتجة عن اي عمل جراجي، وتخفيف الالم على المريض، والحد من تشكل الندب، والمساعدة في الترميم وتعويض الضياعات الجلديه، وملء الفراغات الناتجة عن استئصال الكتل الغريبه (الحميد منها والخبيث على حد سواء)، والتوقع بامكانية المساعدة في علاج الافات السرطانية بما يملكه الامنيوغرافت من خصائص ومواصفات تؤهله للعب هذا الدور. ويحتاج التحقق من هذه الفرضية متابعة الحالة موضوع الدراسة وتنفيذ المزيد من الاعمال في هذا السياق.

مساهمة معدي الورقة

د. محفوظ البشير (قسم تكنولوجيا الاشعاع – هيئة الطاقة الذرية السورية): المساهمة في وضع فكرة العمل وتحضير الطعوم وادخالها في التطبيق، وكتابة استمارة مشروع البحث والورقة العلمية واعدادها حسب شروط النشر في المجلة، ومتابعة اجرائات نشر الورقة. كمنسق عام للبحث الذي اشتقت منه هذه الورقة.

د. وائل البرازي شعبة الحروق والجراحة التجميلية في مشفى المجتهد (دمشق): المشاركة في وضع فكرة العمل، وتنفيذ العمل الجراحي ومتابعة الحالة، والاشراف الطبي على مجمل الاعمال الطبية المنجزة في مشفى العباسيين من البداية وحتى مراحل الشفاء الكامل، وتزويد الكادر الطبي العامل في الشعبة بكافة الاستشارات الطبية واتخاذ القرار النهائي في العلاج والاستشفاء.

د. اسلام مسلماني شعبة الحروق والجراحة التجميلية في مشفى المجتهد (دمشق): المساعدة في تنفيذ الاعمال الطبية المنجزة في المشفى، بما في ذلك التحاليل المخبرية والاختبارات السريرية، وتطبيق الامنيوغرافت، ومتابعة الحالة حتى الشفاء الكامل، وتوثيق نتائجها.

كلمة شكر:

يتقدم المؤلفين بالشكر الجزيل للسيد الدكتور ابراهيم عثمان المدير العام لهيئة الطاقة الذرية السورية، وللسيد الدكتور بشير حقوق مدير مشفى العباسيين (دمشق) على الدعم المقدم من قبلهم، ولفريق العمل في الشعبة المختصه بالعمل الجراحي ومتابعته في مشفى العباسيين، ولفريق العمل في وحدة انتاج الامنيوغرافت في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية على الجهد المبذول لانجاز هذا العمل، وشكر خاص للسيدة داليا دفراوي عضو الهيئة المخبرية في وحدة انتاج طعوم الغشاء الامنيوسي (الامنيوغرافت) على المساهمة الفعالة في تحضير النماذج الخاصة بهذا العمل الجراحي.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

References:

1. Barski D, Gerullis H, Ecke T, Boros M, Brune J, Beutner U, Tsaur I, Ramon A, Otto T. 2022. Application of dried human amnion graft to improve post-prostatectomy incontinence and potency: A Randomized Exploration Study Protocol Adv Ther, 37: 592–602. https://doi.org/10.1007/s12325-019-01158-3
2. Bolouri MR, Ghods R, Zarnani K, Vafaei S, Falak R, Zarnani AH. 2022. Human amniotic epithelial cells exert anti‐cancer effects through secretion of immunomodulatory small extracellular vesicles (sEV), Cancer Cell International, 22: 329. https://doi.org/10.1186/s12935-022-02755-z
3. Caliari-Oliveira C, Yaochite JNU, Ramalho LNZ. Palma, PVB, Carlos D, Cumha FQ, DeSouza DA, Frade MAC, Covas DT, Mamegrim KCR, Oliveira MC, Voltarelli JC. 2016. "Xenogeneic mesenchymal stromal cells improve wound healing and modulate the immune response in an extensive burn model," Cell Transplantation, 25 (2): 201– 215.
4. Chehelcheraghi F, Eimani H, Homayoonsadraie S, Torkaman G, Amini A, Majd HA, Shemshadi H. 2016. Effects of Acellular Amniotic Membrane Matrix and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Improving Random Skin Flap Survival in Rats. Iran. Red Crescent Med. J., 18, e25588. [CrossRef].
5. Chulpanova DS, Kitaeva KV, Tazetdinova LG, James V, Rizvanov, Solovyeva VV. 2018. Application of mesenchymal stem cells for therapeutic agent delivery in anti-tumor treatment. Front. Pharmacol. 9: 259. doi: 10.3389/fphar.2018.00259
6. Damyanove CA, Maslev IK, Pavlov VS, Avramov L. 2018. Conventional treatment of cancer realities and problems. Annals of Comp and Alt Med. 1(1): 1-9.
7. Darwish AM, Attia AM, Mostafa AAM. 2022. Role of amniotic membrane in healing of skin graft donor site. MJMR, 33(1): 36-39.
8. Davis JS. 1910. Skin transplantation with a review of 550 cases at the John's Hopkins Hospital. JHH Report. 15: 307–396.
9. Dildar M, Akram S, Irfan M, Khan HU, Ramzan M, Mahmood AR. Alsaiari S, Saeed AHM, Alraddadi MO, Mahnashi MH. 2021. Skin cancer detection: a review using deep learning techniques. Int. Journal Environ. Res. Public Health. 18(10): 5479.
10. Doi H, Kitajima Y, Luo L. Yan C, Tateishi S, One Y, Goto S, Mori R, Masuzaki H, Shimokawa I, Hirano A, Li TS. 2016. "Potency of umbilical cord blood- and Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells for scarless wound healing," Scientific Reports, 6 (1): 18844.
11. Drogunova J, Kabat P, Cucorova V, Hajska M, Koller J. 2019. Deep frozen amniotic membrane used as scaffold and/or carrier for different type. Cell Tissu Bank, 20: 35-48.
12. Fitriani N, Wilar G, Narsa AC, Mohammed AFA, Wathoni N. 2023. Application of amniotic membrane in skin regeneration. Pharmaceutics, 15, 748. https://doi.org/10.3390/ pharmaceutics15030748.
13. Furdova A, Czanner G, Koller J, Vesely P, Furda R, Pridavkova Z. 2023. Amniotic membrane application in surgical treatment of conjunctival tumors. Scientific Reports, 13: 2835.
14. Garwood CS, Steinberg JS. 2016. Whats new in wound treatment: a critical appraisal. Diabetes Metab Res Rev., 32 (1): 268–274. https://doi.org/10.1002/dmrr.2747.
15. Hanson SE, Kleinbeck KR, Cantu D, Kim J, Michael L, Bentz, Lee D, Faucher W, Kao J, Hematti P. 2016. "Local delivery of allogeneic bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells for cutaneous wound healing in a porcine model," Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 10 (2): E90–E100.
16. Hasan N, Nadaf A, Jalees Ahmad F. 2023. Skin cancer: understanding the journey of transformation from conventional and advanced treatment approaches. Molecular Cancer, 168.
17. Hawkins B. 2016. The use of micronized dehydrated human amnion/chorion membrane allograft for the treatment of diabetic foot ulcers: a case series. Wounds, 28(5): 152–157.

18. Herndon DN, Branski L.K. 2017. Contemporary methods allowing for safe and convenient use of amniotic membrane as a biologic wound dressing for burns. Ann Plast Surg., 78: S9–S10.
19. Hortensius RA, Ebens JH, Dewey MJ, Harley BAC. 2018. Incorporation of the amniotic membrane as an immunomodulatory design element in collagen scaffolds for tendon repair. ACS Biomater. Sci. Eng., 4: 4367–4377. [CrossRef].
20. Hossain L, Siddika A, Adnan MH, Diba F, Hasan Z, Asaduzzama SM. 2019. Human amniotic membrane and its anticancer mechanisms: a good hope for cancer therapy. SN Compar Clin. Med, 1: 487-495.
21. Jafari A, Babajani A, Abdollahapour-Alitappeh M, Ahmad N, Rezaei-Tavirani M. 2021/b. Exosomes and cancer: from molecular mechanisms to clinical applications. Med, Oncol., 38(4): 45-61.
22. Jafari A, Rezaei-Tavirani M, Farhadihosseinabadi B, Zali H, Niknejad H. 2021. Human amniotic mesenchymal stem cells to promote/supperess cancer: two sides of the same coin. Stem Cell Research & Therapy, 12, 126: 1-11.
23. Jafari A, Rezaei-Tavirani M, Niknejad H, Zali H. 2021/c. Tumor targeting by conditional medium derived from human amniotic membrane: New insight in breast cancer therapy. Technol Cancer Res Treatment, 20: 15330338211036318, doi: 10.1177/15330338211036318.
24. Jafari, A, Salimi M, Tavakkol R, Jafari, Z. 2020. Oncological emergencies from pathophysiology and diagnosis to treatment a narrative review. Soc. Work Public Health, 35(8): 689-709.
25. Janev A, Ramuta TŽ, Jerman UD, Obradović H, Kamenšek, U, Čemažar, M, Kreft ME. 2023. Human amniotic membrane inhibits migration and invasion of muscle‐invasive bladder cancer urothelial cells by downregulating the FAK/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. Scientific Reports, 13: 19227. https://doi.org/10.1038/s41598-023-46091-2
26. Kaur H, Kesharwani P. 2021. Advanced nanomedicine approaches applied for treatment of skin carcinoma. Journal Control Release, 337, 589-611.
27. Krishnamoorthy M, Prabhu A. 2011. Anticancer activity of cynodon dectyon L. extract on ehlich ascites carcinoma. J. Environ Res Develop, 5: 551-557.
28. Li JY, Ren KK, Zhang WJ, Xiao L, Wu HY, Liu QY, Ding T, Zhang XC, Nie WJ, Ke Y. Deng KY, Liu QW, Xin HB. 2019. Human amniotic mesenchymal stem cells and their paracrine factors promote wound healing by inhibiting heat stress-induced skin cell apoptosis and enhancing their proliferation through activating PI3K/AKT signaling pathway. Stem Cell Res. Ther. 2019, 10, 247. [CrossRef]
29. Madheswaran T, Baskaran R, Yoo BK, Kesharawani P. 2017. In Vtro and in Vivo skin distribution of 5 a- reductase nhibitors loaded into liquid crystalline nanoparticles. Journal Pharm Sci. 106: 3385- 3394.
30. Magatti M, De MS, Vertua E, Parolini O. 2012. Amniotic membrane derived cells inhibit proliferation of cancer cell lines by inducing cell arrest, J Cell Mol Med, 16: 2208-2218.
31. Markiewicz-Gospodarek A, Koziol M, Tobiasz M, Baj J, Radzikowska-Buchner E, Przekora A. 2022. Burn wound healing: clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: the current state of knowledge for clinical practice. Int. J. Environ. Res. Public Health. 19(3): 1338.
32. Modaresifar K, Azizian S, Zolghadr M, Moravvej H, Ahmadiani A. Ninejad H. 2017. The effect of cryopreservation on anti-cancer activity of human amniotic membrane. Cryobiology, 74: 61-67.
33. Nouri M, Ebrahimi M, Bagheri T, Fatemi MJ, Najafbeygi A, Araghi S, Molaee M. 2018. Healing effects of dried and acellular human amniotic membrane and mepitelas for coverage of skin graft donor areas; A Randomized Clinical Trial. Bull Emerg. Trauma, 6, 195–200. [CrossRef]
34. Pelizzo G, Avanzini MA, Icaro Cornaglia A. Osti M, Roman OP, Avolio L, Maccario, R, Dominici M, Silvestri AD, Andreatta E, Federico C, Mantelli M, Ingo DM, Piccinno S, Calcaterra V. 2015. "Mesenchymal stromal cells for cutaneous wound healing in a rabbit model: pre-clinical study applicable in the pediatric surgical setting," Journal of Translational Medicine, 13 (1): 219.

35. Phillips GO, Morales PJ. 2003. The International Atomic Energy Agency (IAEA) Program in Radiation and Tissue Banking: Past, Present and Future. Cell Tissue Bank, 4: 69–76.
36. Riede R, Pérez-Pérez A, Carmona-Fernández A, Mariana J, Casale R, Dueñas JL, Guadix P, Sánchez-Margalet V, Varone CL, Maymó JL. 2019. Human amniotic membrane conditioned medium inhibits proliferation and modulates related microRNAs expression in hepatocarcinoma cells. Scientific Reports, 9: 14193 | https://doi.org/10.1038/s41598-019-50648-51
37. Rocha SC, Baptista CJ. 2015. Biochemical properties of amniotic membrane. V: Mamede AC, Botelho MF, r. Amniotic membrane, Netherland: Springer: 19-40.
38. Sarga, J, Chaib B, Sales K, Winslet M. 2007. Role of stem cells in cancer therapy and cancer stem cells; a review. Cancer cell Int. 11: 1-11.
39. Sheikh ES, Sheikh ES, Fetterolf DE. 2013. Use of dehydrated human amniotic membrane allografts to promote healing in patients with refractory non healing wounds. Int Wound J doi: 10.1111/iwj.12035
40. Utheim TP, Utheim YS, Salvanos P, Jackson C, Schrader S, Geerling G, Sehic A. 2018. Altered versus unaltered amniotic membrane as a substrate for limbal epithelial cells. Stem Cells Translational Medicine. 7: 415–427. www.StemCellsTM.com.
41. Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, Volarevic A, Jovicic N, Arsenijevic N. Armstrong L, Djonov V, Lako M, Stojkovic M. 2018. Ethical and safety issues of stem cell-based therapy. Int. J. Med. Sci., 15: 36–45. doi: 10.7150/ijms.21666.