تثبيط التغيرات الخلوية الوراثية المستحثة بعقار MMC في الفأر الأبيض باستخدام مستخلصي نبات القريص نوع *Urtica pilulifera*

إسماعيل كاظم شبّر   ليث عبد الحسن*   سعدي حمد هلال**

مركز الاشعاع الحياتي/ وزارة العلوم و التكنولوجيا/ بغداد/ العراق.

* جامعة القادسية/ كلية التربية/ السماوة/ العراق.

** كلية العلوم/ جامعة الكوفة/ نجف/ العراق.

المستخلص

تهدف هذه الرسالة إلى التحري عن القابلية المضادة للتطفير في المستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات القريص نوع *Urtica pilulifera* ضد التأثيرات التطفيرية الناجمة عن استخدام عقار المايتومايسين C (MMC) في الفأر المختبري لفترات 2، 4 و 6 يوم. اختبرت التأثيرات السمية من الناحية الوراثية لثلاثة تراكيز مختلفة من مستخلصي اوراق النبات (0.01، 0.1، 0.5 ملغم/كغم)، وقد اختير التركيز (0.01 ملغم/ كغم) كتركيز أمثل لمستخلص الأوراق المائي والكحولي وذلك نتيجة لاقتراب نتائجه من قيم السيطرة السالبة وبدون فروق معنوية. وقد تمثلت المرحلة الأخرى في أجراء عملية التداخل ما بين التركيز الأمثل للمستخلص المائي والعقار (MMC) من جهة وبين التركيز الأمثل للمستخلص الكحولي والعقار (MMC) من جهة أخرى و من خلال اعتماد نوعين من المعاملات بمستخلص القريص قبل استخدام المطفر وبعد استخدامه وذلك لأجل اختبار فعالية أوراق القريص في منع أو تقليل الأثر السمي الوراثي للعقار (MMC) المتمثل بمعامل الانقسام الخلوي و التغيرات الكروموسومية كمؤشرات وراثية خلوية. لقد اظهرت جرعة 0.2 ملغم/ كغم من هذا العقار تأثيرات سمية وراثية تمثلت في انخفاض نسبة معامل الانقسام الخيطي وارتفاع نسبة التغييرات الكروموسومية، الى حوالي 20 ضعفاً، فيما أظهر إعطاء المستخلص المائي والكحولي لأوراق القريص إلى الفئران البيضاء كفاءة عالية في تقليل الأثر السمي الوراثي للعقار (MMC) حيث ارتفعت نسبة معامل الانقسام الخيطي وانخفضت نسبة التغييرات الكروموسومية كذلك فان المعاملة بعد استخدام العقار كانت افضل من حيث النتائج عن المعاملة قبل الاستخدام وبذلك يمكن ان تشير الدراسة الى ان مستخلص أوراق القريص بنوعيه المائي والكحولي يكون من ضمن المثبطات الحيوية Bio-antimutagens بالدرجة الأولى ومن ضمن المثبطات غير المباشرة desmutagens بالدرجة الثانية.

Abstract

The aim of this study was to investigate the potency of aquatic & alcoholic extracts of the leaves of *Urtica pilulifera* plant against mutagenecity of Mitomycine C (MMC) drug in mice.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

The genotoxic effects of three different concentrations 0.01, 0.1 & 0.5 mg/kg from aqueous or ethanolic extract were tested in mice. 0.01 mg/kg bw from either types of extracts were selected as non-genotoxic in comparison to control. Drug-plant extract interaction was tested using mitotic index & Chromosomal aberrations as bioindicators for detection of the potency of the plant extract in reduction of MMC-induction of cytogenetic effects. Two types of treatments were followed, either plant extracts were given before (2, 4, 6) days, or after (2, 4, 6) days, of treatment with MMC. The results revealed that 0.2 mg/kg of MMC significantly inhibited bone marrow cell division and increased the spontaneous levels of chromosomal aberration up to 20 times. Treatment of mice with aqueous or alcoholoic leaf-extract reduced significantly ($p < 0.01$) the genotoxic effects of MMC. This reduction was more pronounced in animals which were given the extract after treatment with MMC comparing to its treatment before the MMC exposure. These results indicated that *Utrtica pilulifera* leaves extract behave as bio-anti mutagen first degree and acting indirectly in the 2nd degree.

المقدمة

شهدت القرون الثلاث الماضية تطوراً هائلاً وسريعاً وبصورة خاصة في مجالات الصناعة والزراعة وقد بينت بعض الإحصائيات بأن العوامل البيئية تغطي حوالي 90 % من أسباب نشوء السرطان في بعض الدول [1]. وكان لتطور العلوم واستخدام المجهر الإلكتروني واكتشاف المادة الوراثية وأثرها والطفرة الوراثية الكروموسومية ودورها في ظهور حالة السرطان الأثر البالغ في توجه الإنسان نحو البحث عن الوسائل التي يمكن استخدامها لمنع حدوث مثل هذه الأمراض أو البحث عن المواد المضادة لها. تلعب النباتات دوراً مهما في وقاية الخلية من عمليات التسرطن، من خلال حماية الجزيئة الهدف في الخلية (DNA) لتثبيط المسرطن او تحفيز جهاز اصلاح جزيئة الـ DNA، او ايقاف انقسام الخلايا السرطانية، او من خلال زيادة في طرح و تثبيط التنشيط للمسرطن داخل الخلية . ومن المصادر الطبيعية المهمة في حالة مثل هذه هو استخدام النباتات والأعشاب الطبية. ومن النباتات التي استخدمت في هذا المجال نبات عرق السوس *Glycyrrhiza Glubar* حيث عمل مستخلص من هذا النبات على تثبيط نشوء التغيرات الكروموسومية وكذلك التبادل الكروماتيدي الناجمة عن تأثير عقار المايتومايسين–C (MMC) [2] ، من ناحية أخرى أظهرت مستخلصات نباتات الزعتر *T. kotochyonus* والنعناع *M. longifolia* قدرتهما على خفض نسبة التغيرات الكروموسومية الناجمة عن تأثير عقار السايكلوفوسفامايد Cychlophosphamid [3].

نبات القريص نوع *Urtica Pilulifera* ينتمي إلى العائلة النباتية *Urticaceae* وينتشر في أماكن مختلفة من المنطقتين الوسطى والشمالية في العراق وكذلك في بعض الأقطار العربية [4]. وقد وجد ان هذا النبات غني بالفيتامينات E 300 جزء/ مليون، C 380 جزء/ مليون، A 1500 جزء/ مليون فضلاً عن الكاروتين 970 جزء/ مليون كذلك فان نسبة البروتين في مسحوق هذا النبات هي

Created with nitro PDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

12 % وهو خالي من الفلوفينويدات لكنه غني بالفينولات [5].

ويعتبر المايتومايسين C (MMC) من العقاقير التي تستعمل لمعالجة بعض أنواع السرطانات وهو عامل قاعدي يتطلب تحويل ايضي ليصبح فعال بايولوجياً ذو قابلية على قتل الخلايا من خلال تايضه وانتشاره في خلايا الجسم [6]. إن حدوث عمليات التطفير Mutagenesis والتسرطن Carcinogenesis داخل الخلايا الحية لا يمكن أن تستمر إذ توجد هنالك عمليات أخرى مضادة للتطفير Antimutagenesis ومضادة للتسرطن Anticarcinogenesis، وبدون وجود هذه العمليات تستطيع العوامل الفيزيائية والكيميائية الدخول بسهولة إلى المادة الوراثية DNA وبالتالي إحداث تغييرات وراثية لهذه الخلايا. ان النباتات من أهم العناصر الغذائية التي يتناولها الإنسان لما تحتويه من عناصر ومركبات طبيعية تمتلك خاصية مضادة للتطفير وبالتالي الوقاية من مختلف أنواع السرطانات، ولقد تبين دور النباتات في تثبيط الطفرة الوراثية والوقاية من السرطان بعد إجراء عمليات الاستخلاص المتنوعة للمواد الموجودة في الأجزاء المختلفة للنبتة من سيقان وجذور وثمار وأوراق جراء عملية التداخل بينها وبين المواد السامة وذات الفعالية التطفيرية [7] .

كان الهدف من هذا البحث هو الكشف عن التأثيرات السمية الوراثية لنبات القريص نوع *U. piluhifera* المستخدم في الطب الشعبي لعلاج بعض امراض النزف الداخلي و الصدفية، فضلاً عن دراسة مقدرة مستخلصات هذا النبات في تثبيط عملية نشوء التغيرات الوراثية الناجمة عن المعاملة بالمسرطن الكيمياوي (Mitomycine C) .

المواد وطرائق العمل

1. **النبات المستخدم :** إن النبات المستخدم في هذه الدراسة هو نبات القريص من نوع *Urtica Pilulifera* بعد التأكد من تصنيفه وتحديد نوعه من قبل المعشب الوطني التابع الى وزارة الزراعة – بغداد/ العراق. وقد تم جمع عينات هذا النبات المتمثلة بالأوراق من محطة التجارب التابعة لمنظمة الطاقة الذرية العراقية سابقاً في ربيع 2001 [5].

2. **الحيوانات المختبرية :** استخدمت ذكور وإناث الفئران السويسرية البيضاء من نوع *Mus musculus* وقد تم الحصول على هذه الفئران من شركة الرازي لإنتاج اللقاحات والعدد التشخيصية التابعة لوزارة الصناعة، وكانت أعمارها بين 8-12 أسبوع وأوزانها بين 23-29 غم . وزّعت هذه الحيوانات داخل أقفاص بلاستيكية ووضعت في غرفة تتراوح درجة حرارتها بين 20-25 درجة مئوية وأعطيت الماء والعليقة المتكاملة.

3. **طرق الاستخلاص:**

أ. تحضير المستخلص المائي لأوراق نبات القريص: تم ... افة ... و التيجفف في درجة حرارة الغرفة) المطحونة ووضعت في بيكر وأضيف إليها 300 مل من الماء المقطر ووضع الخليط في حمام مائي (Water Bath) بدرجة حرارة 50 مئوية لمدة ساعة مع الرج والتحريك بين فترة وأخرى، بعد ذلك رشح المحلول عبر ورق الترشيح للحصول على الراشح المائي ثم وزع هذا الراشح في أنابيب اختبار سعة 10 مل وعرضت إلى الطرد المركزي بسرعة 4000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق ثم اخذ السائل العلوي وركز باستخدام المبخر الدوار (Rotary Evaporator) للحصول على المستخلص المائي [8].

ب. تحضير المستخلص الكحولي لأوراق نبات القريص: تم وزن 25 غم من الأوراق الجافة المطحونة وتمت مجانسته مع الكحول الاثيلي بتركيز 75% باستعمال جهاز الاستخلاص (Soxhelt) ولمدة ساعة وبدرجة حرارة 40 درجة مئوية ، بعدها تم اخذ الناتج وركز باستخدام المبخر الدوار للحصول على المستخلص الكحولي [9].

4. **تجريع الحيوانات المختبرية :** تم تجريع الحيوانات المختبرية عن طريق الفم (Orally) و ذلك باستخدام

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

محقنة معقمة سعة (1) مل ومزودة بأداة تجريع معقوفة الشكل وذات نهاية غير مدببة والتي أعدت خصيصاً لهذا الغرض.

5. **الاختبارات الوراثية:** طريقة الحصول على كروموسومات الخلايا الجسمية لأجراء الاختبارات الوراثية تم اتباع الطريقة التالية [10] :

- حقنت الحيوانات بـ 0.25 مل من محلول الكولجسين بتركيز 0.6 ملغم/ كغم وذلك عن طريق إناء الخلب (Intraperitonially).
- تمت التضحية بالحيوانات بعد ساعتين عن طريق فصل الفقرات العنقية (Cervical Dislocation)
- ثبت كل فأر على جهته الظهرية فوق طبق التشريح ومسحت الجهة البطنية للحيوان بمنطقة الفخذ بالكحول الاثيلي 70%.
- قص الجلد فوق منطقة الفخذ وازيلت العضلات حول عظم الفخذ الذي يمسك من وسطه بواسطة الملقط ثم يقطع ارتباطه بمفصلي الحوض والركبة.
- مَسْكُ العظم بشكل عمودي على فوهة أنبوبة اختبار بواسطة محقنة معقمة بـ 5مل من محلول Phosphate Buffer Saline (PBS) وذلك لغسل العظم وإنزال كل القي بحيث يصبح لونه ابيض فارغ من الخلايا.
- وضعت الأنابيب الحاوية على القي العظم في النابذة (Centrifuge) بسرعة (2000 دورة/دقيقة) ولمدة 10 دقائق.
- أزيل الرائق وأضيف إلى الراسب 5 مل من محلول كلوريد البوتاسيوم وطئ التركيز الدافئ (بدرجة حرارة 27 درجة مئوية) Hypotonic Solution بتركيز M 0.075 تركت الأنابيب لمدة 30 دقيقة في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 درجة مئوية .
- نقلت الأنابيب إلى النابذة ونبذت الخلايا بسرعة 2000 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق.
- أزيل الرائق وأضيف إلى الراسب المحلول المثبت Fixative Solution (المحضر آنياً من خلط 3 حجوم الميثانول مع حجم حامض الخليك الثلجي) . حجم 5 مل ورجت المحتويات جيداً.
- وضعت الأنابيب بدرجة حرارة 4 درجة مئوية لمدة نصف ساعة.
- رسبت الخلايا بعد نقل الأنابيب إلى النابذة.
- تعاد عملية التثبيت ثلاث مرات ثم تعلق الخلايا بـ 2 مل من المحلول المثبت نفسه .
- تم إسقاط قطرات من محتويات الأنبوبة على شريحة زجاجية نظيفة ورطبة وباردة وبمعدل 4 5 قطرات وبصورة عمودية على الشريحة.
- صبغت الشرائح بصبغة كمزا وتركت لمدة 20 دقيقة ثم تم غسلها بالماء المقطر . بعدها تم إجراء الاختبارات التالية:

أ. اختبار معامل الانقسام الخيطي:

تم فحص الشرائح باستخدام قوة تكبير 600 مرة وتم حساب 1000 خلية منقسمة وغير منقسمة ومن ثم حساب النسبة المئوية للانقسام الخاطئ في تلك الخلايا وفقا للمعادلة:

$$\text{معامل الانقسام} = \text{عدد الخلايا المنقسمة} \times \frac{100}{\text{العدد الكلي للخلايا } 1000}$$

رسومية :

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

تم فحص الشرائح المحضرة باستخدام العدسة الزيتية حيث تم فحص 100 خلية منقسمة لكل حيوان ووضعت في الطور الاستوائي من الانقسام الخيطي و التعرف على نوع التغيرات الكروموسومية وحساب النسبة المئوية لها

السيطرة الموجبة و السالبة:

السيطرة الموجبة (المعاملة بالمطفر MMC فقط): ضمت السيطرة الموجبة 8 فئران تم حقنها جميعاً بالمطفر MMC بشرح كل فأر بعد مرور 2 4 6 أيام على التوالي وهذه تمثل مجموعة المعاملة بالعقار فقط ، أما المجموعة الأخرى من السيطرة الموجبة فأنها تضم فأرين حقنت بالمطفر وشرحت بعد مرور 24 ساعة . هذا الى جانب السيطرة السالبة التي ضمت فأرين حقنت بالدارئ و شرحت مع حيوانات السيطرة الموجبة.

6. دراسة التأثيرات الوراثية للمستخلص المائي و الكحولي: تمت عند هذه المرحلة دراسة ثلاثة تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لأوراق نبات القريص وهي 0.01، 0.1، 0.5 ملغم/كغم ضمت هذه التجربة 6 فئران تم تجريع كل فأرين بأحد الجرع المذكورة أعلاه ولمدة 6 أيام وبعدها تم تشريح الفئران وإجراء الفحوصات الوراثية عليها والمتمثلة باختبار معامل الانقسام الخيطي Mitotic index (MI) واختبار التغييرات الكروموسومية Chromosomal Aberration (CA) (شكل رقم 1). وقد تم اعتماد التركيز 0.01 ملغم/ كغم كتركيز أمثل للمستخلص المائي والكحولي وذلك عند إجراء تجربة التداخل (بعد و قبل) بين نوعي المستخلص وعقار MMC .

7. دراسة تأثير التداخل بين المستخلصين المائي والكحولي للأوراق والمطفر الكيمياوي MMC

أ. المعاملة الأولى (التجريع بالمستخلص النباتي قبل المعاملة بالمطفر): هيئ لهذه المعاملة 20 فأر منقسمة إلى مجموعتين رئيسيتين ، الأولى ضمت 10 فئران تم تجريعها بالمستخلص المائي للأوراق وتضم هذه المجموعة 6 فئران تم تجريعها بالتركيز الأمثل ومن ثم جرى عليها الاختبارات الوراثية المذكورة وتضم هذه المجموعة ثلاث مجاميع ثانوية :

- المجموعة الثانوية الأولى :تضم فأرين تم تجريعهما بالتركيز الأمثل للمستخلص لمدة يومين ثم تم حقنهما بالتركيز الأمثل للمطفر 0.2 ملغم/ كغم بعد مرور 6 ساعات من نهاية إعطاء الجرعة الثانية للمستخلص وتم تشريح هذه الحيوانات في بداية اليوم الثالث.
- المجموعة الثانوية الثانية : وضم فأرين جرعت بالتركيز الأمثل للمستخلص لمدة أربعة أيام ثم تم حقنهما بالتركيز الأمثل للمطفر بعد مرور 6 ساعات من نهاية إعطاء الجرعة الرابعة للمستخلص وتم تشريح الحيوانات في بداية اليوم الخامس .
- المجموعة الثانوية الثالثة : وضم فأرين جرعت بالتركيز الأمثل للمستخلص لمدة 6 أيام ثم تم حقنهما بالتركيز الأمثل للمطفر بعد مرور 6 ساعات من نهاية إعطاء الجرعة السادسة للمستخلص وتم تشريح الحيوانات في بداية اليوم السابع وتقارن نتائج المعاملات أعلاه مع مجموعة السيطرة السالبة التي ضم فأرين ومجموعة السيطرة الموجبة التي تضم أيضا فأرين والتي تم حقنهما بالمطفر MMC

أما المجموعة الرئيسية الثانية فهي تضم أيضاً 10 فئران تم تجريعها بالمستخلص الكحولي للأوراق وهي أيضا منقسمة إلى مجموعتين كما هو مذكور عند المجموعة الرئيسية الأولى

ب. المعاملة الثانية (التجريع بالمستخلص النباتي بعد المعاملة بالمطفر) هيئ لهذه المعاملة 36 فأراً مقسمة إلى مجموعتين رئيسيتين الأولى ضم 16 فأراً جرع بالمستخلص المائي للأوراق بعد أن يتم حقنها جميعاً وفي اليوم نفسه بالمطفر الكيميائي MMC وهي بدورها ضم 6 فئران تم تجريعها بالتركيز الأمثل للمستخلص المائي وتجرى عليها الاختبارات الوراثية المذكورة ، وهي تضم ثلاث مجاميع ثانوية :

- المجموعة الثانوية الأولى: تضم فأرين تم تجريعهما بالتركيز الأمثل للمستخلص المائي بعد مرور 6 ساعات

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

من الحقن بالمطفر MMC واستمر التجريع لمدة يومين وفي بداية اليوم الثالث تم تشريح الحيوانات.

- المجموعة الثانوية الثانية : تضم فأرات تم تجريعهما بالتركيز الأمثل للمستخلص المائي بعد مرور 6 ساعات من الحقن بالمطفر MMC واستمر التجريع لمدة 4 أيام وفي بداية اليوم الخامس تم تشريح الحيوانات.

المجموعة الثانوية الثالثة : : تضم فأرات تم تجريعهما بالتركيز الأمثل للمستخلص المائي بعد مرور 6 ساعات من الحقن بالمطفر MMC واستمر التجريع لمدة 6 أيام وفي بداية اليوم السابع تم تشريح الحيوانات . أما المجموعة الرئيسية الثانية فهي أيضا تضم 16 فأراً تجرع بالمستخلص الكحولي للأوراق بعد أن تم حقنها جميعها في اليوم نفسه بالمطفر MMC وهي منقسمة كما هو موجود عند المجموعة الرئيسية الأولى، وقارن نتائج المعاملات المذكورة مع مجموعة السيطرة السالبة التي تضم فأرات والتي لم يجري عليها أي نوع من المعاملة .

$$\text{نسبة الحماية} = \frac{\text{العقار} - \text{العقار مع المستخلص}}{\text{العقار} - \text{السيطرة السالبة}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

تم اعتماد النظام الإحصائي S.P.S.S على وفق النموذج الإحصائي لتحليل التباين باتجاه واحد (Anova) ولكافة الاختبارات بالإضافة إلى إيجاد الفرق المعنوي الأصغر (LSD) للتوصل إلى الفروق المعنوية بين المجاميع.

النتائج:

1. التأثيرات الوراثية للعقار MMC:

ان معاملة الفئران بعقار MMC ادت الى خفض معنوي في معدلات معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم حيث انخفضت نسبة الخلايا المتعددة من 8.2 % في السيطرة السالبة الى 1.7 % بعد 2، 4، 6 ايام و كذلك بعد 24ساعة (جدول رقم 1).

كما ان المعاملة بهذا العقار ادت الى استحثاث التغيرات الكروموسومية التي شوهدت مثل : كسر كروماتيدي، كسر كروموسومي و كروموسوم حلقي في خلايا نقي العظم ايضاً. و كانت هذه الانواع من التغيرات الكروموسومية تتناسب طردياً مع فترة المعاملة فقد 6 ساعات من المعاملة بالمطفر الكيمياوي MMC حيث تشير الدراسات السابقة [10] الى انخفاض مستوى تركيز هذا العقار في جسم الفأر يظهر بعد 6 ساعات، علماً ان اعلى مستوى يصله في مصل دم الفأر هو بعد 3 ساعات من المعاملة و يبدأ بالانخفاض تدريجياً من خلال طرحه في الادرار الى ان يصل المستوى غير المحسوس بالطرق التي اتبعتها الدراسة [10].

2. التأثيرات الوراثية لجرع متعددة من المستخلص

بخصوص اختبار معامل الانقسام الخيطي وجد بأنه قد حصل انخفاض في النسبة المئوية لمعامل الانقسام وابتداء من التركيز 0.01 ملغم/كغم لتصبح 7.3% لكن هذا لم يشكل أي فرق معنوي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة 8.1% وستمر هذا الانخفاض بالنسبة لبقية التراكيز 0.1 ، 0.5، ملغم/كغم لتصبح 5.8، 4.8 % على التوالي وبمستوى معنوي عالي (أ < 0.001) مقارنة بعينة السيطرة السالبة. أما فيما يخص اختبار التغيرات الكروموسومية التي كانت اغلبيتها نوع كسر كروماتيدي، و جزء منها كسر كروموسومي و كروموسوم حلقي. أن نسبة العدد الكلي لهذه التغيرات بدأت بالارتفاع عند التركيزين 0.1، 0.5 ملغم/كغم لتصبح 3.2،3.3 % على التوالي وبمستوى معنوي (أ < 0.05) وذلك بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة 2% (الجدول رقم 2).

3. أثر التداخل بين المستخلص الكحولي لأوراق نبات القريص والمطفر الكيمياوي MMC على النسبة المئوية لمعامل الانقسام الخيطي:

أ . المعاملة بالمستخلص النباتي (قبل) الحقن بالمطفر MMC: إن النسبة المئوية لمعامل الانقسام الخيطي

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

بدأت بالارتفاع بعد مرور يومين على التجريع وقبل إعطاء المطفر MMC حيث بلغت (3.9 %) وبمستوى معنوي عالي (أ<0.01) واستمرت هذه النسبة بالارتفاع حتى وصلت بعد مرور اربعة ايام الى 4.8 % وبمستوى معنوي عالي ولكن هذه النسبة انخفضت بعد مرور ستة ايام لتصبح 3.3 % وبمستوى معنوي (أ<.0.01) وكل ذلك تم بالمقارنة مع السيطرة الموجبة 1.7 % أما عن السيطرة السالبة 8.2 % فأن جميع هذه الاختلافات شكلت فروقاً عالية المعنوية وبمستوى (أ< 0.001).

ب . المعاملة بالمستخلص النباتي (بعد) الحقن بالمطفر MMC يتضح بأن النسبة المئوية لمعدل الانقسام الخيطي ضمن هذه المعاملة بدأت بالارتفاع عند الأيام 2 4 6 لتصبح 6.5، 7.8، 7.7 % على التوالي وبمستوى معنوي عالي (أ<0.001) وذلك بالمقارنة مع السيطرة الموجبة ، أما عن السيطرة السالبة فأن الاختلاف عند اليوم الثاني سجل فرقاً معنوياً بمستوى (أ<0.01) وبمستوى معنوي (أ< 0.05) عند اليوم الرابع وبدون وجود فرق معنوي عند اليوم السادس. وللتأكد من قدرة المستخلص الكحولي في رفع نسبة معدل الانقسام الخيطي وليس نتيجة لعمليات الإصلاح في الخلية بعد مرور 2 4 6 أيام تم حقن الفئران المختبرية بالعقار MMC فقط وملاحظة النسبة المئوية لمعدل الانقسام بعد مرور 2 4 6 أيام من الحقن وتبين بان قيم هذه النسبة كانت 2.1، 4، 4.5 % على التوالي وقد شكلت هذه الاختلافات فروقاً معنوية بمستوى (أ<0.01) عند المقارنة مع قيم هذه النسبة وضمن تجربة المعاملة (بعد) وبذلك يتضح بان للمستخلص الكحولي دور في تثبيط الأثر السمي الوراثي لعقار MMC من خلال رفعه لهذه النسبة وليس نتيجة لعمليات الإصلاح التي حدث في الخلية (جدول رقم 3). من الجدير بالذكر ان نسبة الحماية التي اظهرتها المعاملة بالمستخلص الكحولي كانت اعلى.

4. أثر التداخل بين المستخلص المائي لأوراق نبات القريص والمطفر الكيمياوي MMC على النسبة يطي

أ. المعاملة بالمستخلص النباتي (قبل) الحقن بالمطفر: يتضح من خلال الجدول (3) بان النسبة المئوية لمعدل الانقسام الخيطي ارتفعت بعد مرور يومين على التجريع حيث طبحت 2% وبدون وجود فروق معنوية ثم واصلت هذه النسبة ارتفاعها لتصل عند اليوم الرابع إلى 3.3 % وبمستوى معنوي (أ<0.01) لتعاود الانخفاض عند اليوم السادس 2.5 % وبدون وجود فرق معنوي وان كل ذلك تم بالمقارنة مع السيطرة الموجبة 1.7% أما عن السيطرة السالبة فان جميع هذه الاختلافات شكلت فروقاً معنوية عالية المستوى (أ <0.001).

ب. المعاملة بالمستخلص النباتي (بعد) الحقن بالمطفر: إن هذه النسبة بدأت بالارتفاع ابتداءً من اليوم الثاني واستمرت بالارتفاع لبقية الأيام حيث كانت القيم 4.6، 5.3، 6.3 % على التوالي وبمستوى معنوي عالي (أ <0.001) وذلك بالمقارنة مع السيطرة الموجبة أما عن السيطرة السالبة فأن الاختلاف عند اليوم الثاني شكل فرقاً معنوياً عالي (أ<0.01) عند الأيام 4 6 أما ضمن تجربة المعاملة بالعقار فقط فقد تبين بان قيم هذه النسبة كانت 2.1، 4، 4.5% وللأيام 2 4 6 على التوالي وبذلك يتضح بان المعاملة (بعد) والخاصة بالمستخلص المائي لعبت دوراً في تثبيط الأثر السمي الوراثي للعقار MMC من خلال رفعه لنسبة معدل الانقسام الخيطي وليس نتيجة لعمليات الإصلاح في الخلية

5. أثر التداخل بين المستخلص الكحولي لأوراق نبات القريص والمطفر الكيميائي MMC على النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية (جدول 3):

أ. المعاملة بالمستخلص النباتي (قبل) المطفر: إن النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية بدأت بالانخفاض عند اليوم الثاني من التجريع 31.5% بمستوى معنوي (أ<0.01) ثم واصلت هذه النسبة انخفاضها حتى وصلت إلى 27% عند اليوم الرابع، أما عند اليوم السادس فأن هذه النسبة ارتفعت قليلاً لتصل إلى 30% وبمستوى (أ<0.05) وكل ذلك تم بالمقارنة مع السيطرة الموجبة 42.5% أما عن السيطرة السالبة 2% فأن هذه

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

الاخلافات شكلت فروقاً معنوية عالية المستوى (أ<0.001).

ب. المعاملة بالمستخلص النباتي (بعد) الحقن بالمطفر: تبين من خلال هذه المعاملة إلى أن النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية قد انخفضت عند الأيام 2، 4، 6 لتصبح 4.6، 5، 5.5 % على التوالي وبمستوى معنوي عالي بالمقارنة مع السيطرة الموجبة وبمستوى معنوي (أ<0.05) عند الأيام 2، 4 وبدون فرق معنوي عند اليوم السادس وذلك بالمقارنة مع السيطرة السالبة ، وقد اتضح بان تجربة المعاملة (بعد) والخاصة بالمستخلص الكحولي تظهر دوراً في تقليل نسبة التغيرات الكروموسومية كما هو الحال عليه عند إعطاء العقار فقط وبمستوى معنوي عالي (أ<0.001) عند المقارنة مع تلك المعاملة.

6. أثر التداخل بين المستخلص المائي لأوراق نبات القريص والمطفر الكيميائي MMC على النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية:

أ. المعاملة بالمستخلص النباتي (قبل) الحقن المطفر: إن النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية بدأت بالانخفاض عند اليوم الثاني لتصبح (41.5 %) وبدون فرق معنوي ، ثم واصلت هذه النسبة انخفاضها حتى أصبحت (33%) عند اليوم الرابع أما عند اليوم السادس فحصل ارتفاع طفيف في هذه النسبة لتصبح 35% وقد شكلت الاختلافات عند الأيام 4، 6 فروقاً معنوية بمستوى (أ<0.01) وذلك بالمقارنة مع السيطرة الموجبة أما عن السيطرة السالبة فأن جميع هذه الاختلافات شكلت فروقاً معنوية عالية المستوى (أ<0.001) (جدول رقم 3).

ب. المعاملة بالمستخلص النباتي (بعد) الحقن بالمطفر: بدأت هذه النسبة بالانخفاض وعند جميع فترات الأيام 2، 4، 6 لتصبح 6، 8، 15.5% على التوالي وبمستوى معنوي عالي وذلك بالمقارنة مع السيطرة الموجبة اما عن السيطرة السالبة فأن الاختلافات عند الأيام 2، 4 شكلت فروقاً معنوية بمستوى (أ<0.01) وبمستوى (أ<0.05) عند اليوم السادس، ويتضح أيضا بان المعاملة (بعد) تلعب دوراً مهماً في تقليل نسبة التغيرات الكروموسومية بالمقارنة مع مجموعة المعاملة بالعقار فقط وبمستوى معنوي (أ< 0.05)

المناقشة

1. التأثير الوراثي لعقار المايتومايسين MMC) C) :

إن العلاج بالعقاقير الكيمياوية يعتبر أحد الوسائل المستخدمة للتخفيف من أعراض عدد من أنواع السرطانات التي تصيب المرء ولكن هذا العلاج لا يخلو من تأثيرات جانبية خطيرة وغير متوقعة ، الأمر الذي يزيد الحالة السلبية للمرضى المصابين بهذا الداء.. ومن بين العقاقير المستخدمة في العلاج عقار الـ (MMC) والذي وجد بان لـه تأثيرات جانبية تصل إلى مستوى المادة الوراثية الـ (DNA)حيث يؤدي إلى تثبيط معامل الانقسام الخيطي في الخلايا اللمفاوية للإنسان [11] وكذلك في خلايا نقي العظم للفئران البيضاء [12] و السوداء [10]. بالإضافة إلى ذلك فهو يتسبب في إحداث تغيرات كروموسومية كثيرة الأمر الذي يعني حدوث الطفرة الوراثية التي قد يؤدي إلى ظهور حالة السرطان [13]، وتعتبر خلايا نقي العظم أكثر الخلايا الجسمية نشاطاً حيث تتميز بانقساماتها السريعة والمتعددة لتعطي أنواع كثيرة ومختلفة من خلايا الدم وفي مراحل مختلفة . وان تأثر معامل الانقسام الخيطي بالمواد الكيميائية أو الفيزيائية يعتمد على الجرعة المعطاة وعلى طريقة التجريع [14].

2. تأثير مستخلص نبات القريص: تحتوي النباتات على العديد من العناصر والمركبات ومنها الفينولية ، القلوية ، الفيتامينات ، المعادن، وكل هذه تلعب دوراً مهماً في إظهار الفعالية المضادة للتطفير ولكن هذه الفعالية تتحول من الحالة الإيجابية إلى الحالة السلبية عندما يتم باستخدام تراكيز عالية من تلك المواد حيث انها تؤدي إلى حدوث تلف وراثي على المستوى الكروموسومي [15]. عند دراسة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات القريص

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

تبين ومن خلال التحليلات الإحصائية بان المستخلص المائي للأوراق بدأ يظهر تأثيرات سمية عند التركيزين 0.1، 0.5 ملغم/كغم وذلك من خلال خفضه لنسبة معامل الانقسام الخيطي وزيادة نسبة التغيرات الكروموسومية (جدول رقم 2) وقد يعزى سبب ذلك إلى احتواء الأوراق على عناصر ومركبات ذات فعالية عالية من المواد الفعالة التي ربما يكون لها اثراً مؤثراً على الخلية. كما وجد أن الأوراق تحتوي على مواد مثل (Vitamin C Vitamin A , Lecithin, Formic Acid , Silicic A) [16] وبالتالي فان مستخلص الأوراق يظهر فعالية مضادة للتطفير بدرجة عالية وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها [17] حيث وجد بان أوراق نبات النيم (Neem Leaves) تمتلك مواد مضادة للتطفير لها القدرة على تثبيط فعل بعض المطفرات مثل (2-Aminofiourene (AF-2), NaN3) ولغرض الكشف القابلية التثبيطية لمستخلص أوراق نبات القريص بنوعيه المائي والكحولي تم انتخاب التركيز 0.01 ملغم/ كغم كتركيز امثل نظراً لعدم امتلاكه تاثيرات سمية وراثية حيث أن قيم الاختبارات الوراثية التابعة له كانت قريبة من قيمة السيطرة السالبة وبدون وجود فرق معنوي(شكل رقم 1)

3. اثر التداخل بين مستخلصي أوراق القريص في الحد من التأثيرات الوراثية للمطفر MMC

أ . التداخل بين المستخلص المائي للأوراق والمطفر MMC:يتضح من خلال(الشكل رقم 2) بان المستخلص المائي لعب دوراً في تقليل سمية العقار MMC من خلال رفعه لمعامل الانقسام الخيطي ويوضح الشكل أيضا إلى أن المعاملة (بعد) أدت إلى رفع نسبة معامل الانقسام ولجميع فترات الفحص في الأيام 2 4 6 أما عند المعاملة (قبل) فان النسبة ارتفعت عند الأيام 2 4 لتنخفض عند اليوم السادس و بخصوص التغيرات الكروموسومية فان (الجدول رقم 3) يوضح بان نسبتهما قد انخفضت عند جميع فترات الأيام 2 4 6 وذلك عند المعاملة (بعد) أما عند المعاملة (قبل) فقد حصل انخفاض لترتفع عند اليوم السادس.

ب .التداخل بين المستخلص الكحولي للأوراق والمطفر MMC:اتضح من خلال(الجدول رقم 3) إلى أن المستخلص الكحولي أدى وبفعالية كبيرة في تقليل السمية الوراثية للعقار MMC وذلك من خلال رفعه لنسبة معامل الانقسام الخيطي وخفض نسبة التغيرات الكروموسومية(شكل رقم 3) ولجميع فترات الأيام 2 4 6 والخاصة بالمعاملة (بعد)، أما عند المعاملة (قبل) فقد حصل انخفاض في سمية العقار عند الأيام 2 4 لترتفع قليلاً عند اليوم السادس. إن انخفاض نسبة معامل الانقسام الخيطي وارتفاع نسبة التغيرات الكروموسومية عند اليوم السادس وضمن المعاملة (قبل) والخاصة بالمستخلص المائي الكحولي قد يعزى إلى تظافر الفعل التراكمي للمستخلص النباتي عند ذلك اليوم مع الفعل السام للمطفر MMC أي إن الخلية تعرضت إلى فعل عاملين يمتلكان تأثير سمي بالإضافة إلى ذلك فان العقار فاق في قدرته قدرة المستخلص النباتي والذي لم يتمكن من إعاقة الفعل السام للمطفر، إضافة إلى أن الاختلاف في نوع المعاملة قد يقود إلى تقييد فعل المثبط وبالتالي إتاحة الفرصة للمطفر من أداء فعله السام وراثياً [18] ومن خلال إجراء عملية المقارنة ما بين المعاملتين (قبل) و(بعد) مع السيطرة الموجبة اتضح لنا بان المعاملة (بعد) تظهر فعالية كبيرة في تقليل الأثر السمي الوراثي للمطفر MMCاكثر من المعاملة (قبل) وذلك من خلال رفع نسبة معامل الانقسام الخيطي وخفض نسبة التغيرات الكروموسومية فكانت نسبة الحماية اعلى بكثير من اعطاء المستخلص بعد العقار (جدول رقم 4). ومن خلال ذلك نشير إلى أن مستخلص أوراق نبات القريص سواء كان مائي أو كحولي يصنف ضمن المثبطات الحيوية (Bio-antimutagens) بالدرجة الأولى أي تعمل على تنشيط عمليات إصلاح الطفرة وضمن المثبطات المباشرة (Desmutagens) بالدرجة الثانية والتي من خلالها يحدث تثبيط التنشيط الايضي للمطفر [19] إن سبب ذلك يرجع إلى احتواء نبات القريص على العديد من الفيتامينات والمركبات الفينولية وكل هذه تلعب دوراً فعالاً

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

في تثبيط الطفرة الوراثية وتقليل دورهما وهذا يتفق مع ما أشار إليه [15] من أن مستخلص نبات الريحان البري يمتلك فعالية مضادة للتطفير من النوع الحيوي ضد الطفرات لذاتية (Spontaneus Mutation) أو المحفزة (Induced mutation) في النظام الاختباري لبكتريا القولون *Escherichio Coli K12* حيث أن المواد المتواجدة في هذا المستخلص تعمل على حث أنظمة إصلاح الـ DNA في الخلية وكذلك حث أنظمة التضاعف ..[8]

جدول (1): أستحثاث التغيرات الكروموسومية في خلايا نخاع عظم الفأر المختبري بعد معاملتها بالمطفر الكيمياوي MMC

المعاملة	الانقسام الخلوي	التغيرات الكروموسومية			مجموع التغيرات الخلية %
		كسر كروماتيدي	كسر كروموسومي	كروموسوم حلقي	
السيطرة	8.1	1.2	0.8	0.00	
المعاملة بـ MMC 0.2 ملغم /كغم					
اليوم الثاني	2.1	22.7	13.5	5.3	41.5
اليوم الرابع	4.0	18.2	10.5	4.3	33.0
اليوم السادس	4.5	14.5	9.5	5.0	29.0

جدول (2): تاثير مستخلصي نبات القريص على الانقسام الخلوي والتغيرات الكروموسومية على خلايا نخاع عظم الفار المختبري

المعاملة/الجرعة	الانقسام الخلوي (%)	مجموع التغيرات الكروموسومية	انكسار كروماتيدي	انكسار كروموسومي	كروموسوم حلقي

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

			% خلية		
السيطرة السالبة	8.2	2.0	1.3	0.7	0.0
المعاملة بالمستخلص المائي					
0.01 ملغم/ كغم	7.3	(2.0)	1.1	0.9	0.0
0.10 ملغم/ كغم	5.8	(3.3)	2.0	1.0	0.3
0.50 ملغم/ كغم	4.8	(3.2)	1.9	1.1	0.2
المستخلص الكحولي					
0.01 ملغم/ كغم	8.8	(2.2)	1.2	1.0	0.0
0.10 ملغم/ كغم	6.3	(3.1)	1.7	1.3	0.1
0.50 ملغم/ كغم	5.1	(4.0)	2.2	1.4	0.4

جدول (3): القابلية التثبيطية لمستخلص نبات القريص على التاثيرات الخلوية الوراثية المستحثة بعقار MMC في خلايا نخاع عظم الفأر المختبري

المعاملة	الانقسام الخلوي	كسر كروماتيدي	كسر كروموسومي	كروموسوم حلقي	مجموع التغيرات الكروموسومية في 100 خلية
السيطرة السالبة	8.2	1.3	0.7	0.0	(2.0)
السيطرة الموجبة MMC 0.2 ملغم / كغم	1.7	19.8	14.2	8.5	(42.5)
المستخلص المائي					
أ قبل المعاملة بالعقار					
2 يوم	2.0	18.0	14.5	7.8	(41.5)
4 يوم	3.3	15.5	11.9	5.3	(33.0)
6 يوم	2.5	15.7	12.8	6.7	(35.0)
ب بعد المعاملة بالعقار					
2 يوم	4.6	6.5	8.0	1.0	(15.5)
4 يوم	5.3	5.0	3.0	0.0	(8.0)
6 يوم	6.3	4.8	2.2	0.0	(6.0)
المستخلص الكحولي					
أ قبل المعاملة بالعقار					
2 يوم	3.9	16.7	11.3	3.5	(31.5)
4 يوم	4.8	13.9	9.4	3.7	(27.0)
6 يوم	3.3	14.8	10.5	4.7	(30.0)

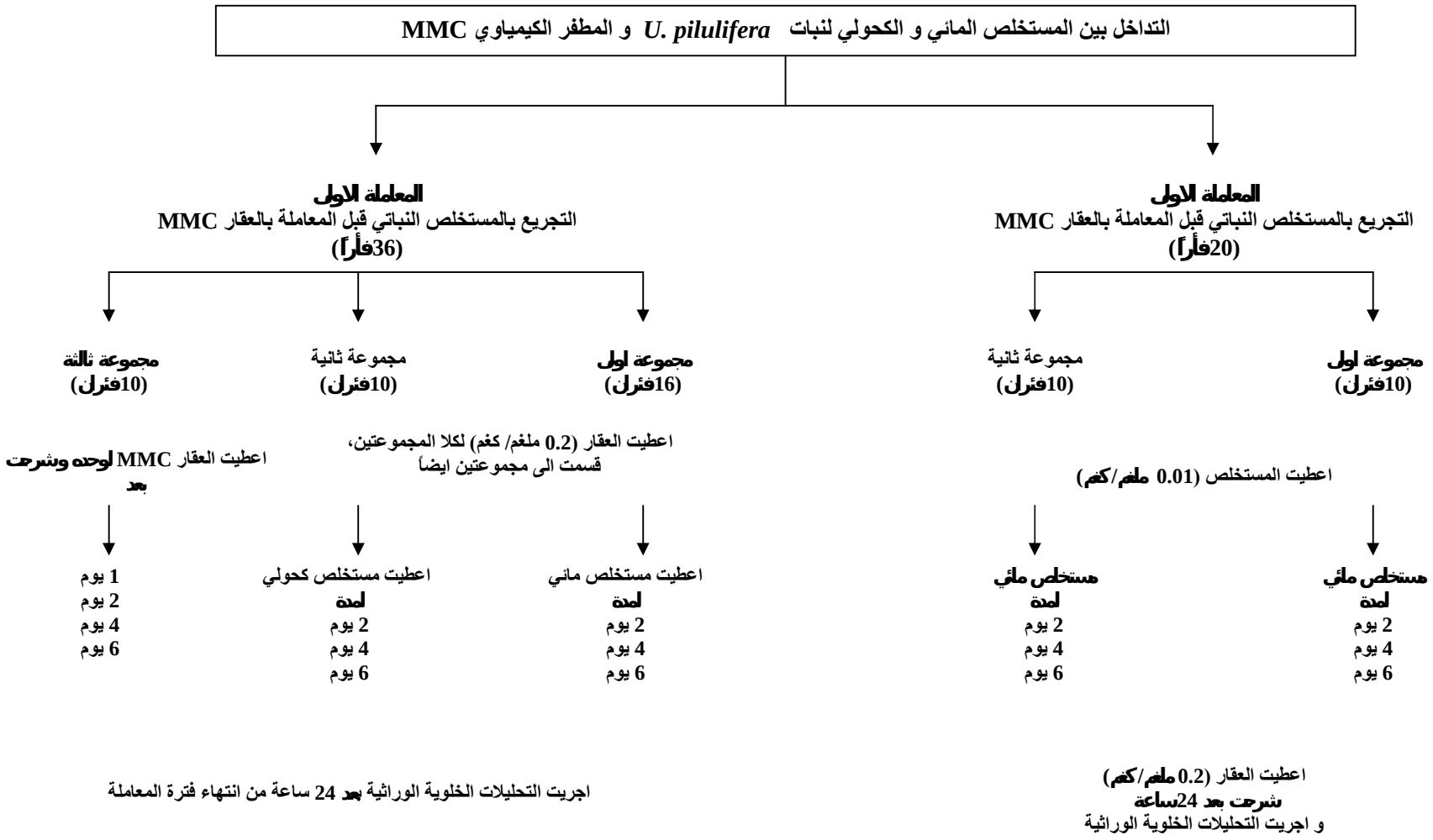
Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

2 يوم	6.5	3.1	0.5	0.0	(4.6)
4 يوم	7.7	4.6	0.4	0.0	(5.0)
6 يوم	8.7	4.9	0.6	0.0	(5.5)

جدول (4): اثر التداخل بين المستخلصين المائي و الكحولي لاوراق القريص على معامل الانقسام الخيطي و التغيرات الكروموسومية لخلايا نقي العظم في الفأر المختبري و نسبة حمايتها

المعاملة	الانقسام الخيطي		التغيرات الكروموسومية	
	%	نسبة الحماية	في 100 خلية	نسبة الحماية
السيطرة السالبة	8.2	-	2.0	-
عقار الـ MMC 0.2 ملغم/ كغم	1.7	-	42.5	-
المستخلص المائي قبل المعاملة بالعقار MMC				
2 يوم	2.0	4.6	41.5	2.4
4 يوم	3.3	24.6	33.0	23.4
6 يوم	2.5	12.3	35.0	18.5
بعد المعاملة بالعقار				
2 يوم	4.6	44.6	15.5	66.6
4 يوم	5.3	55.3	8.0	85.1
6 يوم	6.3	70.7	6.0	90.1
المستخلص الكحولي قبل المعاملة بالعقار MMC				
2 يوم	3.9	33.8	31.5	27.1
4 يوم	4.8	47.6	27.0	38.2
6 يوم	3.3	24.6	30.0	30.8
بعد المعاملة بالعقار				
2 يوم	6.5	73.8	4.6	90.1
4 يوم	7.7	92.3	5.0	92.5
6 يوم	8.7	107.6	5.5	91.3

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional



لريقة معاملة الفئران بالعقار MMC و المستخلصين الكحولي و المائي لنبات القريص نوع *U. pilulifera*

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

المصادر

1. Bassett , M.T ; Hokuninga , E; Mauchaza , B; Levy, L; Ferlay ,J &Parkin, D.M (1995) Cancer in the African Popultion of Harare , Zimbabwe . Int. J. Cancer, 63:29-36.

2. Al-Khayat BMA, Shubber EK, and Ad'hia AH (2004) Inhibition of the Cytogenetic effects of *Hibiscus subdariffa* exctract in mouse bone marrow cells and in human lymphocytes cellular. IBN AL-Haitham J. for Pure and Applied Sciences. 17: 10-24.

3. الربيعي ، فرحة عبد علي (2000) دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية في الفئران البيض ، كلية التربية/ ابن الهيثم ، جامعة بغداد ، رسالة الماجستير.

4. AL-Rawi, A (1988) Poisonous Plant of Iraq. Eds. byAL-Rawi, ministry of Agriculture and Irrigation. Baghdad- Iraq. PP: 122 -125.

5. شبر، اسماعيل كاظم ، فريد فوزي احمد ، سامي موسى أبو طبيخ ، مراد كاظم محمد ، عبد الجليم محيسن جسام (2000) تحسين الكفاءة التغذوية لعلائق فروج اللحم بإضافة مسحوق نبات القريص . المجلة العلمية لمنظمة الطاقة الذرية العراقية ، العدد الأول.

6. Rudd, N.L; Williams, S.E; Evans, M; Hennig, U.G & Hoar, D.I (1991) Kinetochor analysis of micronuclei allow in sights in to the action of colcemid and mitomycin - C. Mutat.Res , 261:57- 68.

7. Hassan MKA, Shubber EK, and Taj AL-Deen SJ (2004) Suppression of genotoxic effects of cyclophosphamide in mice by *N. sativa* seeds extracts. Iraqi J. Biotech. 3:21-46.

8. Sakai ; Nagase , H; Ose , Y ; Sato ,T ; Yamada, A; Hibi, M & Yamada, F(1986) Antimutogenesity of extracts frome crude drugs in Chinese medicine . Mutat.Res, 174:1-4.

9. Harbones, J.B; Mabary, T.J & Mabary, H(Editor) (1975) physiology and function of flavoroids . Acad. Press New York. PP: 340-341.

10. Shubber EK, Kram D, and Williams JR (1985) *In vitro* assay of cytogenetic damage induced in bone marrow cells *in vivo* by chemical carpcinogenes. Japan J. Med. Sci. Biol. 38: 207-216.

11. Littelfield , L ; Colger , S & Dufrain , R(1980) Comparison of SCE in human lymphocyte after exposure to MMC *in vitro* and *in vivo* . Mutat. Res, 67: 191 - 195.

12. الخياط ، بشرى محمد امين (1999) دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية . كلية التربية / ابن الهيثم / جامعة بغداد / رسالة الدكتوراة .

13. Hollander, A (Editor) (1976) Chemical mutagens. Plenum Press. USA.

14. King , M.T; Wild, K; Gorke, E& Eckhardt , (1982) 5 - Brdurd tablets with improved depot effect for analysis in vivo of SCE in bone marrow and

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

spermatogonic cells . Mutat. Res, 97: 117-129.

15. Shubber, E.K & Juma, A.S (1999) Cytogenetic Effects of herbal medicinal plants U. dioica extracts on mouse somatic cells- Nucleus, 42. 182-187.

16. مجيد، سامي مهود ومهود ، ومهند جميل (1988) النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي ، مجلس البحث العلمي ، مركز بحوث علوم الحياة ، بقم العقاقير وتقييم الأدوية - بغداد– العراق.

17. Kusamran, W.R; Tepsuwan , A & Kupradinun , P(1998) Antimutagenic and Anticarcinogenic Potentials of some Thai Vegetables , Mutat . Res, 402: 247- 258.

18. Deflara, S& Ramel, C (1988) Mechanisms of Mutagenesis and Carcinogenesis. Classification and Overview; Mutat. Res. 202:285-306.

19. Kuroda, Y; Jain, A.K; Tezuka, H& Kada. T (1992) Antimutagenecity in cultured mammalian cells. Mutat. Res. 267: 201 - 209.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional