تاثير عصير اوراق الرشاد (*Lepidium sativum*) على معامل الانقسام وتكون الانوية الصغيرة في خلايا نقي عظام الفخذ للفئران البيض

الهام عبد الهادي خلف زهرة محمود الخفاجي *
معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية للدراسات العليا / جامعة بغداد / العراق
* العنوان الحالي : قسم علوم الأغذية / كلية الزراعة / جامعة الموصل / العراق .

الخلاصة

درس تاثير عصير اوراق الرشاد في معامل الانقسام (MI) وتكون النوى الصغيرة (Mn) في خلايا نقي عظام الفخذ للفئران البيض ، وكذلك درس تاثيره المضاد في الاضطرابات التي يولدها العقار Cyclophosphamide (Cp) في معامل الانقسام وتكون النوى الصغيرة . أسفرت النتائج على ان العقار Cp يؤدي الى خفض معامل الانقسام الى قيم مشابه للسيطرة الموجبة بعد مرور يومين وأربعة ايام وستة ايام وبفروق معنوية عن السيطرة السالبة (P<0.01) في حين ان عصير النبات ٠.١ و ٠.٢٥ و ٠.٥ مللتر / حيوان المجرعة عن طريق الفم لم تؤثر في معامل الانقسام وبقيت قيمه مرتفعة ومشابهة للسيطرة السالبة (الحالة الطبيعية) ، اما اعطاء الحيوانات للعصير قبل استعمال المطفر (R/Cp) فقد ساعد الأنسجة بالاحتفاظ بقيم معامل الانقسام الطبيعية وبدون فروق معنوية ، وكذلك الحال عند استعمال العصير مع المطفر سوية (R+Cp) ، اما اعطاء العصير بعد المعاملة بالمطفر (Cp/R) فقد ادى الى نتيجة سلبية وانخفض معامل الانقسام عن القيم الطبيعية (P<0.01) . أشارت نتائج دراسة تكون النوى الصغيرة الى ان العصير لا يؤدي الى حث النوى الصغيرة وبقيت فيها الأعداد بدون فروق معنوية عن السيطرة السالبة وبفروق معنوية عن السيطرة الموجبة (P<0.01) ، وكانت النتائج مشابه عند استعمال العصير قبل المطفر (R/Cp) ، ولكن عند استعمال معاملة الحيوانات بالعصير مع المطفر (R+Cp) وكذلك استعمال العصير بعد المطفر (Cp/R) فقد أدت الى بقاء أعداد النوى الصغيرة مرتفعة وبفروق معنوية عن السيطرة السالبة على مدى مدة الدراسة التي استمرت لمدة ٦ ايام .

المقدمة

يعد تلوث البيئة بالمواد الضارة بصحة الانسان من أهم مشاكل العصر نتيجة التقدم الصناعي واكتشاف العديد من المركبات الكيميائية والعوامل الفيزيائية الموجودة في البيئة او أماكن العمل والتي لا يمكن تجنبها (Dobrzunska و Gajewski ، ٢٠٠٠) ، والتعرض للملوثات يمكن ان يكون بأكثر من طريق مثل تناول الاغذية (Goldman و Shields ، ٢٠٠٣) او عن طريق الاستنشاق (Ribeiro واخرون ، ١٩٨٦) وغيرها من الطرق ، ومن المتوقع ان التعرض لأكثر من عامل يؤدي الى زيادة التاثير في الكائن الحي ، وتتصف معظم الملوثات بكونها مواد محبة للالكترونات لذلك تهاجم الانظمة الحية ذات الطبيعة المختزلة وعليه كانت جزيئات DNA اكثر الجزيئات استهدافا (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) ، ويعد التدمير التاكسدي للـ DNA هو السبب في التطفير والتسرطن والهرم وغيرها من الامراض التي يتعرض لها الانسان (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) .

والكم الكبير من المواد المسرطنة والمطفرة يمكن ان يحد من تأثيرها بواسطة الاغذية خاصة الطازجة ، اذ اشارت العديد من الدراسات الوبائية الموسعة الى ان تناول الخضر والفواكه يقلل من إصابات السرطان خاصة سرطانات القناة الهضمية (Block واخرون ، ١٩٩١) . ومن اهم النباتات التي لها تاثير مضاد للتاثير المسرطن للمطفرات هي نباتات العائلة الصليبية Cruciferae وتقوم المركبات التي تحتويها بعدة آليات لمنع التسرطن (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) . والرشاد *Lepidium sativum* من نباتات العائلة الصليبية الذي يؤدي الى تقليل تدمير DNA وتوليد الأورام المستحثة ببعض المطفرات الغذائية (Kassie واخرون ، ٢٠٠٢) . واستهدفت الدراسة الحالية دراسة تاثير الرشاد على بعض المؤشرات مثل معامل الانقسام Mitotic index (MI) وتكوين النوى الصغيرة Micronuclei (Mn) كمؤشرات لعمليات التسرطن والتطفير (Stich و San، ١٩٨١) والتي تستحث بالعقار Cyclophosphamide الذي يعد من المطفرات القياسية ، ويستعمل في علاج بعض السرطانات نظرا

تاريخ تسلم البحث ٢ /١/ ٢٠٠٨ وقبوله في ٢٠٠٨/٤/٣

لكونه يثبط انقسام الخلايا Cytostatic drug ولكن له تاثيرات سامة وارثيا (Hales ، ١٩٨٢ و Ghaskadbi واخرون ، ١٩٩٢) .

مواد البحث وطرائقه

حيوانات التجربة : استخدمت ذكور الفئران السويسرية البيض *Mus musculus* الضرب Balb/C بمعدل عمر بين ٨ – ١٢ أسبوع وبوزن ٢٥ ± ٢ غرام جهزت من قبل كلية العلوم / جامعة بغداد . وزعت الحيوانات في أقفاص بلاستيكية بهيئة مجاميع وحسب حاجة التجربة في غرفة تراوحت درجة حرارتها ٢٣ – ٢٥° م وأعطيت العليقة الكاملة الخاصة بها والمحضرة محليا والمكونة من المواد الموضحة بالاتي :

المادة	مجروش الحنطة	مجروش الشعير	مجروش الذرة الصفراء	فول الصويا	بروتين حيواني	ملح الطعام	حجر الكلس
%	٣٠	٢٤.٥	٢٢.٥	١٥.٢	٧.١٥	٠.٤٥	٠.٢

نباتات الرشاد (*Lepidium sativum*) : استعملت اوراق الرشاد المشتراة من أسواق بغداد وحضر منها العصير باعتماد طريقة (Lai واخرون ، ١٩٨٠) ، اذ اخذت ١٠٠ غرام من الاوراق النظيفة المغسولة بماء الحنفية وفرمت يدويا ، ثم خلط بالخلاط الكهربائي (Blender من شركة China / Moulient) لمدة ٣ دقائق على السرعة المتوسطة ، ورشح الناتج خلال طبقات من الشاش الطبي ثم روق بالطرد المركزي (بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة) لمدة ٢٠ دقيقة وعقم بالترشيح (Millipore filter 0.22 µm) ، واستعمل طازجا لتجريع الحيوانات .

عقار Cyclophosphamide (Cp) : من شركة Asta / Germany حضر محلول خزين منه ٥ ملغم / مللتر وحضرت منه التراكيز المطلوبة لتجريع الحيوانات .

تم تجريع الحيوانات النماذج فمويا بواسطة محقنة خاصة محورة لهذا الغرض .

المحاليل المستعملة :

محلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي (PBS) : حضر برقم هيدروجيني ٧.٢ (Hudson و Hay ١٩٨٠) استخدم في تحضير الخلايا وملاحظة النوى الصغيرة

محلول التثبيت : حضر من مزج ٣ حجوم من الكحول المثيلي المطلق مع حجم واحد من حامض الخليك الثلجي (Glacial acetic acid) ، يحضر آنيا ويبرد في الثلاجة (٤° م) ويستعمل في تثبيت خلايا نقي العظم (Bone marrow) .

محلول صبغة كمزا Giemsa stain solution : حضر واستعمل في تصبيغ الشرائح المعدة لدراسة الكروموسومات (Metcalf واخرون ، ١٩٨٦) .

اختيار جرع العصير وطريقة التجريع : استعملت ٣ جرع من العصير النباتي ٠.١ و ٠.٢٥ و ٠.٥ مللتر / حيوان واستعملت ٣ فئران لكل جرعة ، وتم التجريع لمدة ٦ ايام متتالية وخصصت ٣ فئران للسيطرة السالبة التي لم تعامل بأي مادة ، اما السيطرة الموجبة فجرعت بـ ٠.٢٥ مللتر من المطفر Cp لتكون الجرعة النهائية ٥٠ ملغم / كغم من وزن الجسم وشرحت بعد مرور ٢٤ ساعة

شرحت الحيوانات بعد ذلك لتحضير الشرائح الزجاجية لنقي عظام الفخذ .

التداخلات بين العصير النباتي والمطفر :

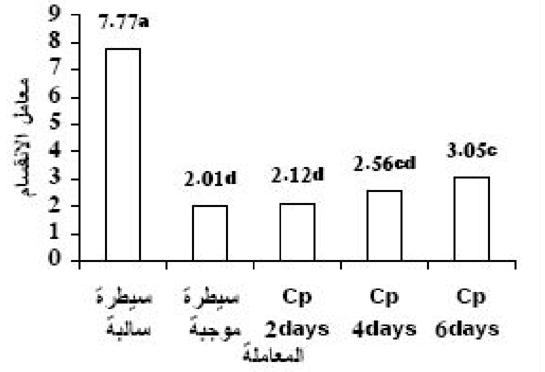
المعاملة الاولى : تجريع الحيوانات بالعصير النباتي قبل المطفر (R/Cp) : استعملت ١٥ فارة حيث تم تجريع ٩ فئران منها بالعصير النباتي ٠.٢٥ مللتر/ حيوان(باعتبارها الجرعة الملائمة وفق التجارب الاولية) وقسمت الى ثلاث مجاميع :

المجموعة الاولى : ضمت ٣ فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة يومين بعدها تم تجريعها بالمطفر Cp (٥٠ ملغم / كغم وزن الجسم) (Agrawal و Kumar ١٩٩٨) ، بعد مرور ٦ ساعات على إعطاء الجرعة الثانية للعصير النباتي ، ثم تم تشريح الحيوانات في اليوم الثالث .

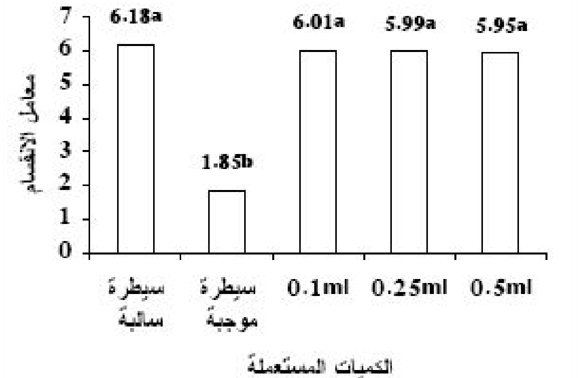
المجموعة الثانية : ضمت ٣ فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة ٤ ايام ، ثم جرعت بالمطفر بعد مرور٦ ساعات من إعطاء الجرعة الرابعة وشرحت في اليوم الخامس .
المجموعة الثالثة : ضمت ٣ فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة ٦ ايام ثم جرعت بالمطفر بعد مرور ٦ ساعات من الجرعة السادسة للعصير النباتي وشرحت في اليوم السابع
اما السيطرة السالبة فقد خصص لها ٣ فئران ، والسيطرة الموجبة ضمت ٣ فئران تم تجريعها بالمطفر وشرحت بعد مرور ٢٤ ساعة من التجريع .
المعاملة الثانية : تجريع الحيوانات بالمطفر قبل العصير (CP/R) ، خصص للتجربة ١٥ فارة ، تم تجريع ٩ منها بالمطفر بتركيز ٥٠ ملغم / كغم وزن الجسم ثم قسمت الى ٣ مجاميع :
المجموعة الاولى : ضمت ٣ فئران تم تجريعها بالمطفر ثم جرعت بالعصير النباتي بعد مرور ٦ ساعات من التجريع بالمطفر واستمر التجريع لمدة يومين متتالية ثم شرحت الحيوانات في اليوم الثالث .
المجموعة الثانية : ضمت ٣ فئران جرعت بالمطفر ثم جرعت بالعصير النباتي بعد مرور ٦ ساعات من التجريع بالمطفر واستمر التجريع لمدة ٤ ايام ثم شرحت في اليوم الخامس
المجموعة الثالثة : ضمت ٣ فئران جرعت بالمطفر ، ثم جرعت بالعصير بعد مرور ٦ ساعات واستمر التجريع لمدة ٦ ايام متتالية وشرحت في اليوم السابع .
خصصت ٣ فئران للسيطرة السالبة و ٣ فئران للسيطرة الموجبة التي تم تجريعها بالمطفر وشرحت بعد مرور ٢٤ ساعة .
تجريع الحيوانات بالمطفر : خصصت ٩ فئران تم تجريعها بالمطفر Cp وتم تشريح ٣ فئران بعد مرور يومين وثلاث بعد ٤ ايام ، وثلاث بعد ٦ ايام .
المعاملة الثالثة : معاملة الحيوانات بالعصير النباتي مع المطفر (R+Cp) ، تم مزج المطفر مع العصير النباتي وحضنت لمدة ٣ ساعات وبدرجة حرارة ٣٧ْم (الربيعي ، ٢٠٠٠) ، ثم جرعت الحيوانات بالنماذج الناتجة لمدة ٦ ايام ثم شرحت .
السيطرة السالبة خصص لها ٣ فئران ، والسيطرة الموجبة خصص لها ٣ فئران جرعت بالمطفر وشرحت بعد مرور ٢٤ ساعة .
تحـ ير الشرائح : حقن الحيوان بمحلول الكولجسين (Colchicine / شركة France / Houde) بمقدار ٠.٢٥ مللتر وبتركيز نهائي ١٠ ملغم / كغم من وزن الجسم تحت غشاء الخلب Intraperitoneal وبعد مرور ٢ – ٣ ساعة قتل الحيوان بطريقة فصل الفقرات العنقية ، واستخرج نقي عظام الفخذ وحضرت منه الشرائح . وصبغت بصبغة كمزا لمدة ٢٠ دقيقة واستعملت للقياسات المطلوبة .
حساب معامل الانقسام الخيطي : استعملت قوة التكبير 640X وتم حساب ١٠٠٠ خلية منقسمة وغير منقسمة (Shubber و Al-Allak 1986) وحسب معامل الانقسام :
معامل الانقسام = [عدد الخلايا المنقسمة / العدد الكلي للخلايا] × ١٠٠
فحـ النواة الصغيرة : لغرض اجراء الفحص اعتمدت طريقة Schmid (١٩٧٦) ، اذ تم الحصول على خلايا نقي العظم باستخدام محقنة طبية نبيذة معقمة باستعمال ١ مللتر من المصل البشري المثبط بالحرارة بدرجة ٥٦ ْم لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم فصلت الخلايا بالطرد المركزي (١٠٠٠ دورة / دقيقة) لمدة ٥ دقائق ، واستعمل الراسب في تحضير الشرائح الزجاجية وصبغت بصبغة كمزا . فحصت الشرائح باستخدام العدسة الزيتية وتم حساب النسبة المئوية للنوى الصغيرة المتكونة في ٥٠٠ خلية من سوابق خلايا الدم الحمر Polychromatic erythrocytes .
التحليل الإحصائي : حللت البيانات إحصائيا باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) واستعمل لذلك النموذج الخطي العام (GLM) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS ، ١٩٩٦) واختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود (Duncan ، ١٩٥٥) .

النتائج والمناقشة

تكثر المواد المؤدية الى الإضرار بالـ DNA في البيئة المحيطة بالكائنات الحية ويمكن ان تكون آتية من الغذاء الذي توصف العديد من مكوناته بانها مضادة للتطفير او التسرطن (Block واخرون ، ١٩٩١) ، ولكن يحدث الضرر عندما لا يكون هناك توازنا بين المواد المطفرة ومضاداتها (Goldman و Shields ، ٢٠٠٣) ، وتستعمل في الدراسات التي تجري داخل الانظمة الحيوية مؤشرات لقياس اضطراب المواد الوراثية منها قياس معامل الانقسام (Shubber و Al-allak ، ١٩٨٦) الذي يتاثر بشكل سلبي عادة بالمواد المطفرة والمسرطنة ، وكذلك يقاس مدى تكون النوى الصغيرة التي توضح تاثير المواد خاصة التي تسبب تكسر الكروموسومات (Heddle و Salamone ، ١٩٨١ و Tawn و Holdsworth ، ١٩٩٢) . ويوضح الشكل (١) تاثير معاملة الحيوانات بالمطفر Cp في معامل انقسام خلايا نقي العظام



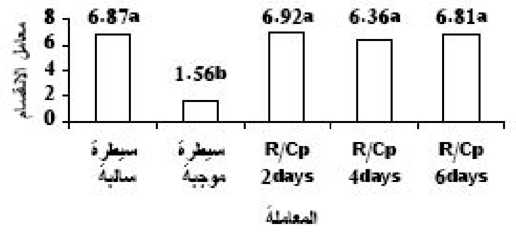
الشكل (١) : تاثير معاملة الحيوانات بالمطفر في معامل انقسام خلايا نقي العظم



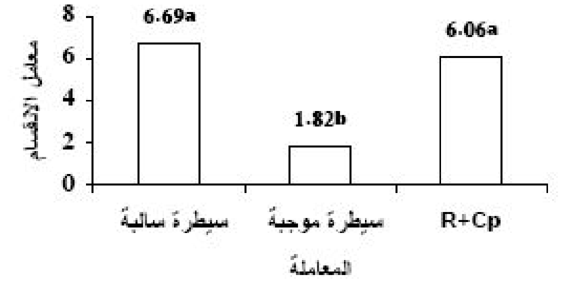
الشكل (٢) : تاثير كميات مختلفة من عصير الرشاد في معامل انقسام الخلايا

فيلاحظ ان السيطرة الموجبة التي تستخرج خلاياها بعد مرور ٢٤ ساعة من المعاملة يكون معامل الانقسام اكثر إحباطا فيها أي ان هناك تاثير سلبي ، وعند ترك الحيوانات لمدة يلاحظ ان عمليات الاصلاح الذاتي والفعاليات الاخرى لم تفلح في استعادة الخلايا لمعامل الانقسام الأصلي ، اذ سجل معامل انقسام (٣.٠٥) بعد ٦ ايام وهو وان اختلف عن قيم السيطرة الموجبة معنويا (P<0.01) الا انه لا يزال منخفضا مقارنة بالسيطرة السالبة وبأهمية إحصائية معنوية ، ولهذا الغرض يستعمل العقار لعلاج بعض السرطانات لانه يوقف انقسام الخلايا بعد ان يتعرض لعمليات الايض داخل الجسم (Hales ، ١٩٨٢ و Ghaskadbi واخرون ، ١٩٩٢) ، ولكنه في الوقت نفسه يعد من المواد الكيميائية المطفرة (Stich و San ، ١٩٨١).

اما الشكل (٢) فيوضح تاثير كميات مختلفة من العصير على معامل الانقسام ويتضح ان ليس للعصير تأثير سلبي اذ بقيت القيم مقاربة للسيطرة السالبة وبدون فروق معنوية ، في حين اختلفت عن السيطرة الموجبة (P<0.01) ، وقد اختيرت الكمية ٠.٢٥ مللتر للدراسات اللاحقة باعتبارها الجرعة الملائمة وذلك لان الحيوانات التي جرعت كميات اكبر (٠.٥) مللتر ظهرت عليها بعض الاعراض السلبية ، والرشاد الذي يعود الى العائلة الصليبية (نباتات *Brassica*) تحوي على مركبات مختلفة من Isothiocyanates (ITCs) (Kassie واخرون ، ١٩٩٩) ، والمركبات الاساس هي Glucosinolates التي تشتق منها ITCs بالتاثير الانزيمي للنباتات مثل انزيم Myrosinase الذي ينتج عند تدمير الانسجة النباتية والتي يمكن ان تساعد بشكل ايجابي ضد المواد الضارة بالخلايا (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) . ويوضح الشكل (٣) تاثير نمط المعاملة بالعصير النباتي و المطفر فمعاملة الحيوانات لمدد مختلفة بالعصير ثم معاملتها بالمطفر (R/Cp) توضح عدم تأثر معامل الانقسام وبقيت الفروق معنوية مقارنة بالسيطرة الموجبة وغير معنوية مقارنة بالسيطرة السالبة (P<0.01) .

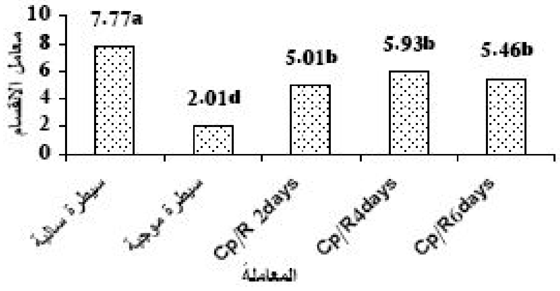


الشكل (٣) : تاثير معاملة الحيوانات بالعصير قبل استعمال المطفر على (R/Cp) في معامل انقسام خلايا نقي عظم الفخذ

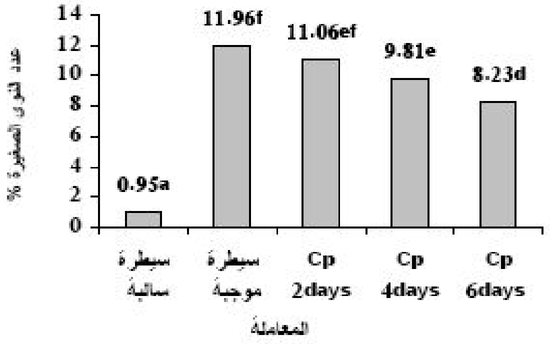


الشكل (٤) : تاثير معاملة الحيوانات بالمطفر مع العصير النباتي (R+Cp) في معامل انقسام خلايا نقي عظم الفخذ

اما الشكل (٤) فيوضح تاثير معاملة الحيوانات بالعصير مع المطفر سوية (R+Cp) في معامل الانقسام . وتشير نتائج الشكل الى عدم تأثر معامل الانقسام وبقيت قيمه دون فروق معنوية عن السيطرة السالبة وبفروق معنوية عن السيطرة الموجبة ($P<0.01$) . ويوضح الشكل (٥) نمط تاثير معاملة الحيوانات بالمطفر ثم اعطائها العصير لمدد مختلفة (Cp/R) في معامل الانقسام .



الشكل (٥) : تاثير معاملة الحيوانات بالعصير النباتي بعد معاملتها بالمطفر (Cp/R) في معامل انقسام خلايا نقي عظم الفخذ



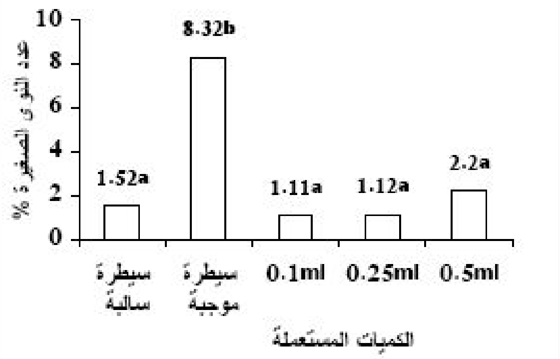
الشكل (٦) : تاثير معاملة الحيوانات بالمطفر في حث النوى الصغيرة في خلايا نقي عظم الفخذ

ويلاحظ ان معامل الانقسام قد تاثر سلبا وأصبحت قيمته تختلف عن السيطرة السالبة وبفروق معنوية ولكن الملاحظ ان العصير قد ساعد في استرداد الخلايا لقيم معامل الانقسام الى حد بعيد بحيث أصبحت ذات فروق معنوية عن السيطرة الموجبة . وتظهر النتائج أعلاه ان عصير الرشاد يحوي العديد من المواد التي يعمل بعضها ضمن صنف مثبطات تطفير مباشرة Desmutagens واخرى تعمل مضادات تطفير حيوية Bioantimutagens تعمل داخل الخلايا (DeFlora و Ramel ، ١٩٨٨) . وقد أثبتت بعض الدراسات (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) ان معاملة الخلايا مثل مزارع الخلايا اللمفاوية البشرية بالمواد الفعالة من المصادر النباتية يقلل من الضرر التأكسدي للـ DNA المستحث ببروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وبشكل معتمد على الجرعة .

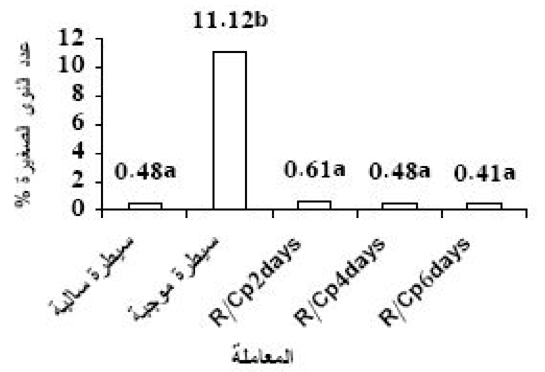
اما الجانب الثاني الذي تناولته الدراسة فشمل حث تكوين النوى الصغيرة ويوضح الشكل (٦) تاثير المطفر في حث النوى الصغيرة في سوابق كريات الدم الحمر (Polychromatic erythrocytes) لنقي عظم الفخذ للفئران اذ تم مسح ٣٠٠٠ خلية ، وتشير النتائج الى الاختلافات المعنوية اعتمادا على المدة ، ففي اليومين الاولية لم يفرق عدد النوى عن السيطرة الموجبة معنويا ، في حين ادت عمليات الاصلاح الذاتي وتخفيف الخلايا الحاوية على النوى الصغيرة نتيجة الانقسام وتكاثر الخلايا بعد ٤ ايام وكذلك بعد ٦ ايام الى نقصان عددها وباختلاف معنوي عن السيطرة الموجبة ، ولكن الأعداد بقيت عالية بعد المدد المذكورة ومختلفة معنويا عن السيطرة السالبة (الحالة الطبيعية)على مستوى احتمال ($P<0.01$) ، والمستوى الطبيعي لتكون النوى الصغيرة يتراوح بين صفر – ٣ / ٥٠٠

خلية (Heddle و Salamone ، ١٩٨١) ، والمطفر Cp المستعمل معروف انه من المواد ذات السمية الوراثية (Ghaskadbi واخرون ، ١٩٩٢) وتاثيره يعتمد على سلالة الحيوان ولعل افضلها الفئران البيض التي استعملت في الدراسة الحالية ، وظاهرة ظهور الانوية الصغيرة والتي هي اجسام تحوي على الكروماتين يمكن ان تنشأ من تكسر الكروموسومات او من فقدان الكروموسوم للجسم المركزي لذلك لا ينضم لانوية الخلايا الناتجة بعد الانقسام ، أي ان الخلل يمكن ان يكون خارج مادة DNA وفي هذه الحالة يكون بالتاثير على الجهاز المغزلي للانقسام (Mitotic spindle apparatus) ، وبصورة عامة فان زيادة اعداد الانوية الصغيرة يكون مؤشرا على حصول تشوهات تركيبية او عددية والتي تشير بدورها الى وجود تدمير للمادة الوراثية (Heddle واخرون ، ١٩٨٣ و Mavornin واخرون ، ١٩٩٠) .

الشكل (٧) يوضح تاثير الكميات او الجرع المستعملة من عصير الرشاد في حث النوى الصغيرة في نقي العظام



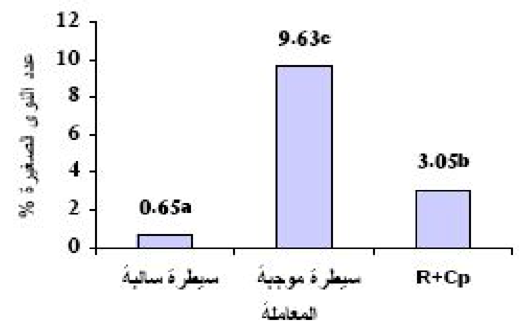
الشكل (٧) : تاثير كميات مختلفة من عصير الرشاد في حث النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم



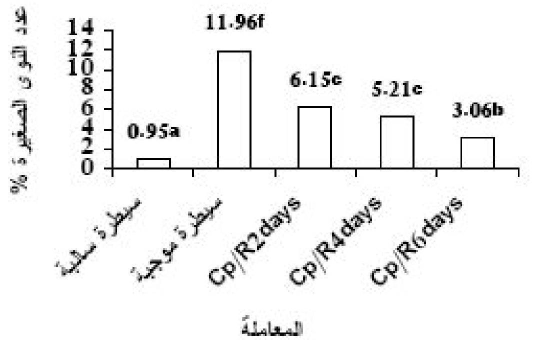
الشكل (٨) : تاثير معاملة الحيوانات بالعصير قبل المطفر (R/Cp) في حث النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم

وتشير النتائج والتحليل الإحصائي لها الى عدم حث النوى الصغيرة بالعصير اذ لم تختلف القيم عن السيطرة السالبة او الحالة الطبيعية بشكل معنوي (P<0.01) ولكن استعمال ٠.٥ مللتر ادى الى ارتفاع طفيف في القيم وهذا يعود الى ان ITCs الحلقية وعند ارتفاع تراكيزها يمكن ان تظهر سمية وراثية ، ففي دراسات لإحدى هذه المركبات Benzyl ITCs لوحظ حثها للنوى الصغيرة وبشكل معتمد على الجرعة ، فعند استعمال ٤ مايكروغرام / مللتر من المركب المذكور النقي ادى الى زيادة عدد النوى الصغيرة الى ثلاثة أضعاف الحالة الطبيعية ، ولكن لحث السرطنات في الفئران يلزم استعمال تراكيز عالية تصل الى ٢٠٠ ملغم / كغم وزن جسم الحيوان (Kassie واخرون ، ١٩٩٩) ، ويتعرض الانسان الى اقل من هذه الجرعة بأربعة اضعاف ، وهذا يعني انه في الحالة الطبيعية لا يوجد خطر منها وقد سجل في بعض البلدان المتقدمة ان معدل التناول اليومي من Glucosinolates وهي المركبات التي تشتق منها Benzyl ITCs يصل الى ٤٢ ملغم / وزن جسم الانسان / يوم من خلال تناول نباتات العائلة الصليبية (Sones واخرون ، ١٩٨٤) ، ولكن من جهة ثانية فأن النباتات الصليبية تحوي العديد من المواد المضادة للاكسدة ومنها الفينولات المتعددة والفلافونات والكاروتينات والكلوروفيل والفيتامينات (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) .

اما تاثير نمط المعاملة بالعصير وتداخله مع المطفر في حث النوى الصغيرة ، فالشكل (٨) يوضح نتائج استعمال العصير قبل المطفر (R/Cp) والشكل (٩) للعصير مع المطفر (R+Cp) والشكل (١٠) لمعاملة الحيوانات بالعصير بعد تعريضها للمطفر (Cp/R)



شكل ٩ : تاثير معاملة الحيوانات بالمطفر مع العصير (R+Cp) في حث النوى الصغيرة



شكل ١٠ : تاثير معاملة الحيوانات بالعصير بعد معاملتها بالمطفر (Cp/R) في حث النوى الصغيرة

وعند معاملة الحيوانات بالعصير اولا شكل (٨) يلاحظ انه كان للعصير تاثير ايجابي جدا ، اذ كان عدد النوى الصغيرة المستحثة بدون فروق معنوية عن الحالة الطبيعية وكانت ذات فروق معنوية عن السيطرة الموجبة (P<0.01) . اما المعاملة بالعصير والمطفر سوية كما يوضحها الشكل (٩) ، فقد ادت المعاملة الى بقاء مستوى من أعداد النوى الصغيرة وان كانت اقل وتفرق معنويا عن السيطرة الموجبة ولكن المستوى كان عاليا وبفرق معنوي عن السيطرة السالبة . والشكل (١٠) يشير الى ان اعطاء العصير بعد المعاملة بالمطفر قد ادى الى تقليل أعداد النوى الصغيرة ولكن ليس بشكل كبير واختزال الاعداد كان بنمط معتمد على المدة وكانت ذات فروق معنوية مقارنة بالسيطرة الموجبة ولكنها لم تصل الى الحدود الطبيعية وبقيت ذات فروق معنوية عن السيطرة السالبة . وتخلص الدراسة الى ان استعمال نباتات العائلة الصليبية ذات فائدة كبيرة في تقليل الضرر الذي يحصل للمواد الوراثية ، وتشير العديد من الدراسات الوبائية الموسعة الى ان استهلاك نباتات العائلة الصليبية له علاقة عكسية مع حدوث انواع من السرطانات خاصة سرطان القولون Colorectal cancer (Block ، ١٩٩٢) ، فالفواكه والخضر تساهم في العديد من العمليات الخلوية الحيوية التي تؤدي الى منع التاثير الضار من الإجهاد التاكسدي (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) ولذلك فان إبعاد الإجهاد التاكسدي يعد إستراتيجية مهمة . وقد وجد ان الرشاد *L . sativum* يؤدي الى تقليل تدمير DNA وتكون البؤر السرطانية Aberrant cryptic foci المستحثة بالمسرطن الغذائي 2-amino-3 methyl-3H-imidazol[4,5-f] quinolin (IQ) الذي يسبب الأورام في القولون والكبد في الجرذان ، فالرشاد وغيره من نباتات *Brassica* يمكن ان تمنع السرطانات في مراحل مختلفة مثل تثبيط عملية البدء او المراحل اللاحقة لها (Grasl-Kraupp واخرون ، ١٩٩٤ و Smith واخرون ، ١٩٩٨) وتعمل مركبات العائلة الصليبية بطرق واليات مختلفة لحماية الأنظمة الحيوية .

EFFECT OF GARDEN CRESS (*LEPIDIUM SATIVUM*) ON MITOTIC INDEX AND FORMATION OF MICRONUCLEI IN WHITE MICE BONE MARROW CELLS

Ilham A. Khalaf Zahra M. Al-Khafaji*
Institute of Genetic Engineering & Biotechnology for Postgraduate Studies / University of Baghdad / IRAQ .
* Present address : Dept. of Food Science / University of Mosul / IRAQ.

ABSTRACT

The effect of garden cress (*Lepidium sativum*) on mitotic index (MI) and formation of micronuclei (Mn) in bone marrow cells of white mice was studied , in addition to the study of the counter effect of plant juice on MI disruption

and Mn induction by cyclophosphamide (Cp) . The results indicated that Cp reduced the MI to level of positive control after 2 , 4 , 6 days with significant differences compared to the negative control (P<0.01) , while the plant juice 0.1 , 0.25 , 0.5 ml / animal administrated orally had no effect and the MI values were similar to the negative control. Oral administration of juice before administration of the mutagen (R/Cp) or with the mutagen (R+Cp) helped the tissues to preserve their MI values at natural level. Administration of juice after the mutagen (Cp/R) resulted in reduction of MI values compared to the natural values with statistical significant difference (P<0.01)

Results of Mn induction indicated that the quantities of juice used had no effect on induction of Mn and were significantly different from positive control . Similar results obtained upon using the treatment (R/Cp), but using the juice with mutagen (R+Cp) or using the juice after mutagen (Cp/R) elevated the count of Mn with significant differences (P<0.01) and the case persisted for 6 days (the experiment duration) .

المصادر

الربيعي ، فرحة عبد (٢٠٠٠) . دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية في الفئران البيض . رسالة ماجستير ، كلية التربية ابن الهيثم / قسم علوم الحياة / جامعة بغداد .

Agrawal, R. and S. Kumar. (1998). Preventive of cyclophosphamide induced micronucleus formation in mouse bone marrow by indole -3- carbinol . Food Chem. Toxicol. 36 : 975 – 977 .

Block , G . ; B. Patterson and A . Suber (1992) . Fruits , vegetables and cancer prevention : a review of epidemiological evidences . Nutr . Cancer 18 : 1 – 29 .

DeFlora , S . and C . Ramel (1990) . Classification of mechanisms inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis . Basic Life Sci . 52 : 461 – 462 .

Dobrzynska , M . and A . Gajewski (2000) . Induction of micronuclei in bone marrow and sperm head abnormalities after combined exposure of mice to low doses of X-rays and acrylamide . Terat . Carcino . Mutag . 20 : 133 -140 .

Duncan , D. (1955) . Multiple range and multiple F- test . Biometric 11 : 1 - 42 .

Ghaskadbi , S ; S. Rajmachikar ; C . Agate ; A. Kapadi and V . Vaidya (1992) . Modulation of cyclophosphamide mutagenicity by vitamin C *in vivo* rodent micronucleus assay. Mutagens 12 : 11 -17 .

Goldman , R . and G . Shields (2003) . Food Mutagens . J . Nutr . 133 : 965 – 973.

Grasl-Kraup , B . ; W . Bursch ; B . Ruttkay-Nedecky ; A . Wagner ; B . Lauer and R. Schulte-Hermann (1994) . Food restriction eliminates preneaoplastic cells through apoptosis and antagonizes carcinogenesis in rate liver . Proc. Natl . Acad. Sci . 91: 9995 -9999.

Hales , B . (1982) . Comparison of the mutagenicity and teratogenicity of cyclophosphamide and its active metabolites 4 – hydroxyl cyclophosphamide , phosphamide mustard and acrolein . Cancer Res . 42 : 3016 – 3021 .

Heddle , J. and M . Salamone . (1981). The micronucleus Assay . I . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R. San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Hudson , L. and F. Hay . 1980 . Practical Immunology . 2nd Edition. Blackwell Scientific Publications : London .

Kapiszewska , M . ; E . Soltys ; F . Visioli ; A . Cierniak and G . Zajac (2005) . The protective ability of the Mediterranean plant extracts against the oxidative damage .

The role of the radical oxygen species and the polyphenol content . J . Physiol . Pharmacol . 56 : 183 -197 .

Kassie , F . ; B . Pool-Zobel ; W. Parzefall and S . Knasmuller (1999) . Genotoxic effects of benzyl isothiocynatate , a natural chemoprotective agent . Mutagenesis 14 : 595 – 604 .

Kassie , F . ; S . Rabot ; M . Uhl ; W . Huber ; H . Qin ; C. Helma ; R . Schultr-Hermann and S . Knasmuller (2002) . Chemoprotective effects of garden cress (*Lepidium sativun*) and its constituents towards 2-amino-3-methyl-imidazo[4,5-f] quinoline (IQ)- induced genotoxic effects and colonic preneoplastic lesions . Carcinogenesis 23 : 1155 -1161 .

Kassie , F . ; M . Uhl ; S . Rabot ; Grasl-Kraup , B . ; R . Verker ; M. Kundi ; M . Chabicovsky ; R . Schultr-Hermann and S. Knasmuller (2003) . Chemoprotective effects of 2-amino-3- methyl-imidazo[4,5-f] quinoline (IQ)- induced colonic and hepatic preneoplastic lesions in the F433 rat by cruciferous vegetables administrated simultaneously with carcinogen . Carcinogenesis 24 : 255 - 261

Lai , C. ; M. Butler , and T. Matney (1980) . Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content . Mut. Res. 77 : 245 - 250 .

Mavournin , K . ; D . Blakey ; M . Cimino ; M . Salamone and J . Heddle (1990) . The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood . A report of U.S . of the Environmental Protection Agency gene – tox program . Mut . Res 239 : 29 – 80 .

Metcalf . J . ; J . Gallin ; W . Nauseef and R . Root (1986) . Laboratory Manual of Neutrophil Function . Revan Press : New York .

Ribeiro , L . ; D. Salvadori ; C . Pereira and W . Becak (1986) . Activity of ethylene oxide in the mouse sperm morphology test . Arch . Toxicol . 60 : 331 -333 .

Schimd , W . (1976) . The Cell Micronucleus Test for Cytogenetic Analysis . *In* " Chemical Mutagens : Principles and Methods for their Detection ". A. Hollaender (Ed.) . Plenum : New York , Vol IV.

Shubber E. and B. Al-Allak (1986). Spontaneous chromosomal aberrations and SCEs in human lymphocyte , effect of culture conditions . Nucleus 29 : 92 – 98 .

Smith , T . ; T . Lund and T . Johnson (1998) . Inhibition of the dimethyl- hydrazine-induced aberrant cryptic foci and induction of apoptosis in rat colon following oral administration of the glucosinolate siningrin . Carcinogenesis 19 : 267 – 273 .

Sones , K . ; R . Heany and G . Fenwick (1984) . An estimate of the mean daily intake of glucosinolates from cruciferous vegetables in the UK . J . Sci . Food Agric. 35 : 712 – 720 .

Stich, H. and R. San (Eds.) (1981). Short – Term Tests for Chemical Carcinogens . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Tawn , E . and D . Holdsworth . (1992) . Mutagens Induced Chromosome Damage in Human Lymphocytes . *In* " Human Cytogenetic " Vol. II. D. Rooney and B . Czepukowski (Eds.) . Oxford University Press, UK.