تاثير الاطعام طويل الامد بالرشاد *Lepidium sativum* في بعض مؤشرات الوراثة الخلوية في الفئران 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 اطعام الفئران بالعقار Cyclophospamide (Cp) والتاثير المعاكس وبمعاملات مختلفة على مدى طويل (شهرين .) درست مؤشرات تسجيل معامل انقسام الخلايا وحث تكوين النوى الصغيرة واعداد التشوهات الكروموسومية وانواعها ، اضافة الى دراسة التاثير في الخلايا التكاثرية (النطف) وحث التشوهات فيها وانواعها . أوضحت النتائج ان العقار لوحده خفض معامل الانقسام بنسبة ٤٤ % من القيمة الطبيعية (٦.٨٤) ، ولكن المعاملة (R/Cp) ترفعه الى ٧٣.٥ % من القيم الطبيعية ، والمعاملة (R/+Cp) الى ٨٧.٩ % ، والمعاملة (Cp/R) الى ٨٤.٦ % . ادى استعمال العقار (السيطرة الموجبة) الى رفع عدد النوى الصغيرة الى ١٨.١٦ مقارنة بالمستوى الطبيعي (١.٠٦) ، في حين ادت المعاملة (R/Cp) الى خفض الاعداد الى (٦.٥٦) ،والمعاملة (R+Cp) الى ٦.١١ ،والمعاملة (Cp/R) الى (٥.٨٢) ، وكل هذه القيم كانت تفرق معنويا عن السيطرة السالبة (P<0.01) واقل من السيطرة الموجبة وبفروق معنوية (P<0.01) . ادى استعمال العقار الى رفع عدد التشوهات الكروموسومية الى (١٧) مقارنة بالسيطرة السالبة (١.٦٢) ، ولكن المعاملات المذكورة اعلاه خفضت الاعداد عن السيطرة الموجبة ، فكانت المعاملة (R/Cp) (٦.٠٦) والمعاملة R+Cp (٤.٣٧) والمعاملة Cp/R (٤.٨١) وانسحب التاثير على انواع التشوهات التي درست . ادى العقار الى رفع اعداد النطف المشوهة الرؤس الى (٢١.٠١) مقارنة بالحالة الاعتيادية (١.١٥) ، والمعاملات اعلاه خفضت الاعداد : R/Cp الى (٦.٧٣) والمعاملة R+Cp الى (٦.٠٦) والمعاملة Cp/R الى (٦.٠٣) ، وكانت الاخيرة هي الافضل ، والقيم فرقت معنويا عن السيطرة السالبة (P<0.01) واقل من السيطرة الموجبة وبفروق معنوية (P<0.01) وانسحب التاثير على نتائج انواع تشوهات النطف التي درست .

المقدمة

تساعد الاغذية الجسم في التخلص من العديد من المواد اطارة (Block وأخرون ، ١٩٩١) خطة التي تؤثر على المواد الوراثية وتؤدي الى اضطرابها ، وبالنتيجة حث السرطانات ، والبعض من المسرطنات تختص بعضو معين من جسم الانسان (Goldman و Shields ، ٢٠٠٣) ، في حين يكون البعض الاخر عام التأثير مثل العقار Cyclophosphamide (Cp) اذ ان تاثيره يمكن ان يزداد نتيجة الإحباط المناعي الذي يسببه في الجسم (Stoltz ، ١٩٨١) فضلا عن ان متايضاته تحث التشوهات الكروموسومية وتزيد من التبادل الكروماتيدي ألشقيقي (Edenharder واخرون ، ١٩٩٨) . وهناك طرق متعددة لدخول المواد المطفرة والمسرطنة الى الجسم مثل الاستنشاق (Ribeiro واخرون ، ١٩٨٧) او عن طريق الطعام كما في المسرطنات الغذائية مثل الامينات متباينة الحلقات (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) . وتشير الدراسات الوبائية الموسعة الى ان تناول نباتات العائلة الصليبية Cruciferae التي ينتمي اليها الرشاد لها علاقة عكسية مع توليد السرطانات وخاصة سرطان القولون (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) ، اذ تقوم المركبات التي تحويها بفعاليات وآليات مختلفة لحماية الجسم منها التقليل من الإجهاد التاكسدي Oxidative stress على المواد الوراثية (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) . وقد وجد ان الرشاد يقلل من تدمير DNA وتكون Aberrant cryptic foci المستحثة بالمسرطن الغذائي 2-amino-3-methyl-imidazo[4,5-f] quinoline (IQ) الذي يسبب الأورام في الكبد والقولون (Kassie وأخرون ، ٢٠٠٣) . ويمكن ان تقوم مركبات العائلة الصليبية بحث الانزيمات المزيلة للسمية (Sparnins وأخرون ، ١٩٨٢) وغيرها من الانزيمات (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) ، كما ان للرشاد تاثير مضاد

تاريخ تسلم البحث في ٢٠٠٨/١/٢ وقبوله في ٢٠٠٨/٦/١٩

للتطفير تجاه عدد من المبيدات عند استعماله في فحص ايمس وخاصة السلالات TA98 و TA100 (Kalaycioglu واخرون ، ١٩٩٧) . ويسجل الضرر بعدة مؤشرات مثل قياس معامل انقسام الخلايا الذي يتأثر سلبا بالمواد المطفرة والمسرطنة (Shubber و Al-Allak ، ١٩٨٦) ، والذي على ضوئه يستعمل

العقار Cp لعلاج بعض السرطانات وان كانت للعقار تاثيرات سلبية (كما ذكر اعلاه) . ويستعمل مؤشر تكون النوى الصغيرة وتشوه الكروموسومات ، وتشوه النطف كأدلة على التاثير الضار لبعض المواد على المواد الوراثية (Thompson واخرون ، ١٩٩١) . وتحتاج الفحوص قصيرة الامد التي تستعمل بكثرة لسهولتها (Stich و San ، ١٩٨١) الى التدعيم بنتائج فحوص داخل الانظمة الحية (استعمال الحيوانات) وبمعاملات طويلة الامد ، لملاحظة توزيع المواد على أنسجة الجسم والفعاليات الحيوية التي تتم عليها لغرض استخلاص نتائج واضحة (Rosin ، ١٩٨١ و Kassie واخرون ، ١٩٩٩) . وفي الدراسة الحالية تم دراسة تأثير اطعام الفئران بالرشاد والعقار Cp لمدة طويلة وبتداخلات مختلفة على المؤشرات المذكورة اعلاه .

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 .

العليقة المستعملة : وهي محضرة محليا وتتكون من :

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 : مشتراة من أسواق بغداد

عقار Cp (Germany / Asta) : حضر محلول خزين منه وحضرت منه التراكيز المطلوبة لتجريع الحيوانات .

معاملة الحيوانات : خصص للتجربة ٢٠ فار ، واستمرت التجربة لمدة ٦٠ يوم ، وأجريت لها المعاملات الآتية :

السيطرة السالبة : تركت الحيوانات تأكل العليقة العادية وتشرب الماء العادي لمدة شهرين ، وخصص لها ٤ فئران .

السيطرة الموجبة : تركت الحيوانات تأكل العليقة العادية وتشرب الماء العادي ولكن كانت تجرع بالعقار Cp يوميا بكمية ٢٥ ملغم / كغم وزن الجسم ، وخصص للمعاملة ٤ فئران .

المعاملة بالنبات قبل المطفر (R/Cp) : أطعمت الفئران العليقة الطبيعية لها مع النبات بنسبة (١ : ١) لمدة (٣٠) يوم ، ثم اعطيت عليقة طبيعة لوحدها لمدة ٣٠ يوم اخرى مع تجريعها بالعقار Cp لمدة (٣٠) يوم .

المعاملة العقار مع النبات (Cp+ R) : خصص للتجربة ٤ فئران واعطيت العليقة العادية مع النبات بنسبة (١:١) لمدة (٦٠) يوم وكانت تجرع بالعقار يوميا ولمدة (٦٠) يوم .

المعاملة بالنبات بعد المطفر (Cp/ R) : خصص للمعاملة (٤) فئران وأعطيت العليقة الكاملة مع التجريع بالمطفر لمدة (٣٠) يوم ، ثم اعطيت العليقة الكاملة مع النبات بنسبة (١ : ١) لمدة شهر .

بعد شهرين تم قتل الحيوانات واستخراج نقي العظام من عظم الفخذ ، وكذلك تم استخراج النطف من البربخ لإجراء الدراسات عليها .

الدراسات المختبرية :

تحضير الخلايا : تم الحصول على خلايا نقي العظام وفق طريقة Allen واخرون (١٩٧٧) و Atlas واخرون (١٩٩٥) .

تحضير النطف : تم تحضير ودراسة النطف وفق طريقة Wyrobek و Bruce (١٩٧٥) .

حساب التشوهات الكروموسومية : تم بفحص ١٠٠ خلية في الطور الاستوائي من الانقسام الخيطي باستعمال المجهر بقوة تكبير نهائية ١٦٠٠ X.

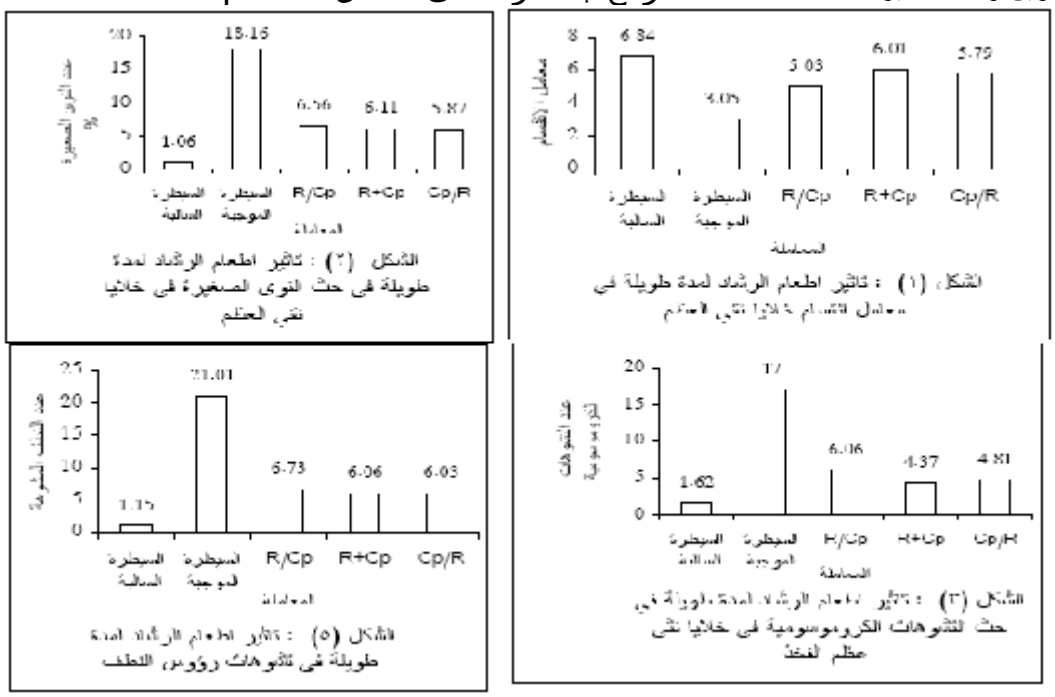
فحص النواة الصغيرة : تم مسح ٥٠٠ خلية من سوابق كريات الدم الحمر Polychromatic erythrocytes لكل حيوان (Schmid ، ١٩٧٦) .

حساب معامل الانقسام الخيطي Mitotic Index : تم بفحص ١٠٠٠ خلية منقسمة وغير منقسمة لكل حيوان ، ثم حسبت النسبة المئوية (Shubber و Al-Allak ، ١٩٨٦)

التحليل الإحصائي : حللت البيانات إحصائيا باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) واستعمل لذلك النموذج الخطي العام (GLM) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS 1996) واختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود (Duncan ، ١٩٥٥) .

النتائج والمناقشة

تعرض الكائنات الحية للمواد الضارة وخاصة ذات السمية الوراثية يؤدي الى أ طرار بالكائنات الحية وعند عدم اصلاحها يمكن ان يعبر باضطراباتها الى الاجيال القادمة (Dobrzynka و Gajewski ، ٢٠٠٠) ، كما ان التعرض لأكثر من عامل يؤدي الى زيادة الاضرار نظرا لوجود التآزر بين المواد المسرطنة (Ashby ، ١٩٨١) . ولكن على الجانب الاخر يمكن ان توفر الاغذية وخاصة نباتات العائلة الصليبية الحماية للأظمة الحيوية . والدراسة هدفت الى معرفة التاثير الضار لبعض المواد الضارة للانظمة الحيوية مثل العقار Cp عند التعرض لمدة طويلة . والشكل (١) يوضح تاثير اطعام الفئران بالعقار لمدة شهرين وكذلك تاثير تداخلات مختلفة للعقار مع نبات الرشاد على معامل الانقسام



الشكل (١) : تاثير اطعام الرشاد لمدة طويلة في معامل انقسام خلايا نقي العظم

الشكل (٢) : تاثير اطعام الرشاد لمدة طويلة في حث النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم

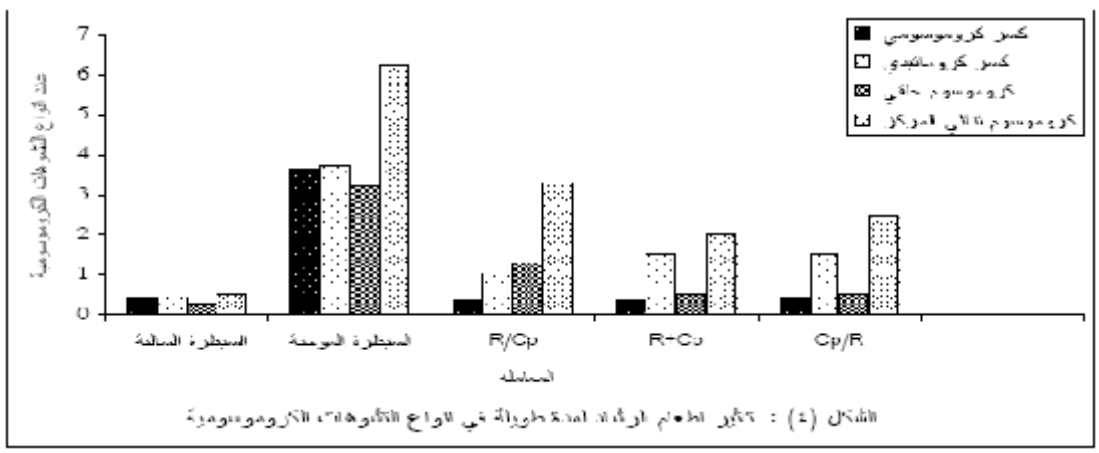
الشكل (٣) : تاثير اطعام الرشاد لمدة طويلة في حث التشوهات الكروموسومية في خلايا نقي عظم الفئران

الشكل (٥) : تاثير اطعام الرشاد لمدة طويلة في تشوهات كروموسوم اللطف

فالعقار يعد من المواد ذات السمية الوراثية خاصة بعد ان يتايض في الجسم (Ghaskdbi واخرون ، ١٩٩٢) ، وتشير نتائج الشكل الى ان العقار قد ادى الى انخفاض قيم معامل الانقسام بنسبة حوالي ٤٤ % عن القيم الطبيعية ، في حين ان اطعام الفئران بالعقار مع الرشاد (R+Cp) لمدة شهرين قد ساعد الخلايا في استعادة معاملات انقسامها بنسبة وصلت الى ٨٨ % من السيطرة السالبة (الحالة الطبيعية) تلته في ذلك معاملة الحيوانات بالعقار ثم بالرشاد (Cp/R) لمدة شهر لكل منهما اذ ادت الى استعادة حوالي ٨٥ % من القيم الطبيعية وكانت القيم لا تفرق معنويا عن السيطرة السالبة ، وكانت اقل القيم هو عند معاملة الحيوانات بالرشاد لمدة شهر ثم بالعقار لشهر اخر (R/Cp) اذ ساعدت في استعادة ٧٣.٥ % من القيم . ويوضح الشكل (٢) تاثير العقار وتداخلاته مع الرشاد في حث تكون النوى الصغيرة ، فمن الواضح ان العقار ادى الى زيادة عدد النوى الصغيرة المحسوبة لكل (٥٠٠) خلية الى حوالى (١٧) ضعف ، في حين ان اطعام الرشاد مسبقا قبل اعطاء الحيوانات العقار (R/Cp) قد ادى الى انخفاض عدد المرات الى ٢.٧ ، اما المعاملة (R+Cp) و (Cp/R) فقد خفضت الاعداد الى قيم متقاربة (ثلاثة أضعاف) ، ولم تكن المعاملات ذات فروق معنوية فيما بينها ولكنها كانت تفرق معنويا عن السيطرة السالبة اذ تفوقها في الاعداد وفي الوقت نفسه كانت اقل من القيم المسجلة للسيطرة الموجبة وفرقت عنها معنويا على مستوى احتمال ($P<0.01$) . وفحص النوى الصغيرة يمكن ان يوضح مدى الضرر الذي تحدثه المواد المطفرة والمسرطنة في المادة الوراثية اذ تنتج من تكسر الكروموسومات وإنتاج قطع لا تحتوي على المركز ، كما نها يمكن ان تمثل ضرر اخر وهو فقد الكروموسوم لجسمه المركزي وعدم قابليته على الانضمام مع الهيئة الكروموسومية للخلايا الناتجة بعد الانقسام ليتكور ويكون نوى صغيرة أي ان التاثير يمكن ان يكون على جهاز الانقسام المغزلي

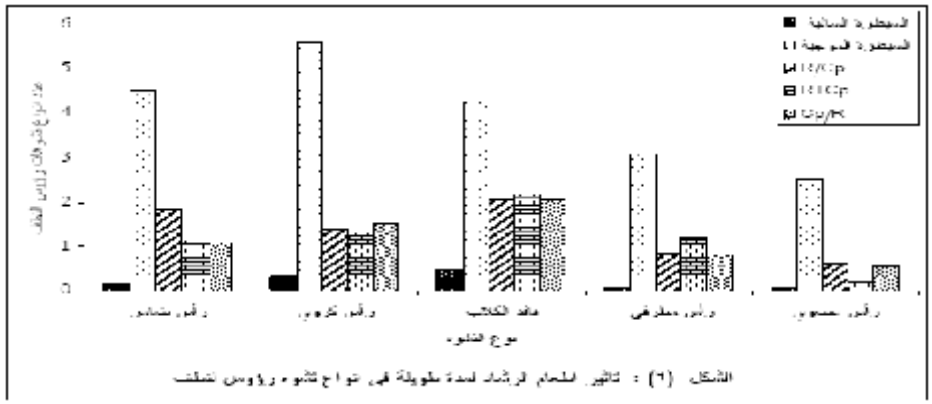
(Wahnschaffe واخرون ، ٢٠٠٥) ، وعقار Cp يؤدي الى زيادة حث النوى الصغيرة (Legator و Rinkus ، ١٩٨١) والزيادة الكبيرة الملحوظة تعود الى ان للعقار تاثير تراكمي ، كما ان تكرار الجرعة يزيد من حساسية الفحص ، وزيادة اعداد النوى الصغيرة يكون دليلا على حصول تشوهات كروموسومية تركيبية او عددية (Heddle واخرون ، ١٩٨٣) والتي بدورها تعني حدوث تدمير للـ DNA الذي يستحث بالمواد الضارة . ويوضح الشكل (٣) تاثير المعاملات بالعقار والرشاد بتداخلات مختلفة لمدة طويلة على تشوهات الكروموسومات ويتضح ان اطعام الفئران بالعقار لمدة شهرين متتالية ادى الى زيادة كبيرة في عدد التشوهات الكروموسومية مقارنة بالحالة الطبيعية وبفروق معنوية ($P<0.01$) اذ ادى ذلك الى زيادة القيم حوالي (١٠) اضعاف ، اما اطعام الحيوانات بالرشاد والعقار فقد ادى الى خفض القيم الى نسب تراوحت بين ٦٤ – ٧١.٧ % ولم تكن هناك فروق معنوية بين المعاملات ، ولكنها كانت اقل من السيطرة الموجبة والى من السيطرة السالبة وبفروق معنوية على مستوى احتمال ($P<0.01$) . اما الشكل (٤) فيوضح انواع التشوهات التي درست وهي الكسور الكروموسومية والكسور الكروماتيدية والكروموسومات الحلقية والكروموسومات ثنائية المركز . والملاحظ ان استعمال العقار Cp لمدة شهرين متتالية قد ادى الى زيادة كبيرة لكل انواع التشوهات لعل أبرزها تكون الكروموسومات ثنائية المركز التي ازدادت بنسبة ١٢.٥ مرة بقدر القيم الطبيعة ، اما التشوهات الاخرى فقد تراوحت زيادتها بين ٦.٥ – ٨.٤ مرة وكانت باختلافات معنوية عن السيطرة السالبة (الحالة الطبيعية) على مستوى احتمال ($P<0.01$) . اما المعاملات واطعام الحيوانات بالرشاد مع العليقة فقد ادى الى خفض التشوهات الى حد كبير ففي حالة الكسور الكروموسومية ادت المعاملات الى رجوعها الى المستوى الطبيعي او اقل من السيطرة السالبة وبدون فروق معنوية ، في حين ان الكسور الكروماتيدية رجعت الى المستوى الطبيعي في حالة المعاملة (R/Cp) ، بينما انخفضت الكسور في المعاملات الاخرى ولكنها بقيت بفروق معنوية عن السيطرة السالبة . وتمكنت معاملة الحيوانات بالعقار مع الرشاد (R+Cp) بالعودة بالكروموسومات الحلقية الى حدود المستويات الطبيعية وبدون فروق معنوية ، ولكن معاملة الحيوانات بالنبات ثم بالمطفر وان ادت الى خفض عدد الكروموسومات الحلقية الا انها بقيت ذات فروق معنوية عن السيطرة السالبة مما يشير الى امتداد تأثير العقار ، اما التشوه الاخر المهم وهو الكروموسومات ثنائية المركز والتي تعد من التشوهات القاسية لأنها تنتج من حدوث اكثر من كسر في الكروموسوم وعندما لا يمكن إصلاحها تسبب ظهور مثل هذا التشوه (McDermott ، ١٩٧٥) . والملاحظ ان المعاملات ادت الى تغيير في قيم التشوهات فرقت معنويا عن السيطرة الموجبة ، فالمعاملة (R/Cp) أبقت على حوالي ٥٣ % من القيم المستحثة بالعقار والمعاملة (R+Cp) كانت افضل وأبقت على ٣٢ % والمعاملة (Cp/R) أبقت على ٤٠ % من التشوهات المستحثة بالعقار .

ان وجود التشوهات الكروموسومية يعد دليلا على وجود ضرر في DNA (Heddle واخرون ، ١٩٨١) والتي يمكن ان تنتقل الى الأجيال القادمة (Sotomayer ، ١٩٧٩) ، والمعروف ان العقار Cp يزيد من التغييرات الكروموسومية وتبادل الكروماتيدات الشقيقة في مزارع خلايا الانسان المختلفة (Edenharder ، ١٩٩٨) . كما ان الخلايا عند تعرضها للمواد السامة وراثيا وحث التشوهات فيها تبدا بعمليات الاصلاح منها Recombinational repair و Alkylation repair (في حالات خاصة) (Shand و Howord ، ١٩٧٩) التي تؤدي الى حصول بعض التشوهات في الكروموسومات كما انها تؤدي الى تأخير دورة الخلية ، وفي حالة عدم إمكانية الخلايا التخلص من الاخطاء فانها ستعاني من النخر او الموت المبرمج (Goldman و Shields ، ٢٠٠٣) . والعقار معروف انه من العوامل المؤلكة التي تضيف مجموعة الكيل الى DNA كما يحصل عند مثيلة DNA أي انها تؤدي الى تكون – Carcinogen DNA adducts بارتباطات تساهمية بين المسرطن او جزء منه ونيوكليدات DNA (Strickland و



الشكل (٤) : تاثير اطعام الرشاد لمدة طويلة في انواع التشوهات الكروموسومية

Groopman ، ١٩٩٥ و Goldman و Shields ، ٢٠٠٣) وهذه التفاعلات تجعل المناطق المجاورة للتغيير حساسة لإنزيمات Nucleases (Flamm و Mehlam ، ١٩٧٨) وخاصة مناطق الكروماتين المتباين Heterochromatin التي تقسم الى Facultative heterochromatin و Constitutive heterochromatin وتكون موزعة على مناطق ، مختلفة من الكروموسوم ومسؤولة عن ثباتية الجينوم ، والاخيرة تفصل الجينات الفعالة والمهمة عن بعضها وتحميها من التطفير اضافة الى وظائف اخرى (McDermott ، ١٩٧٥) ولكن هذه المناطق تكون معرضة بشكل كبير لعمليات التطفير كما انها تشكل مناطق ملائمة لدخول الفيروسات المولدة للأورام وبذا يمكن ان يحصل التدمير لهذه المناطق وقد يطال مجموعة من الجينات المسئولة عن سلامة الجينوم (Caretaker genes) او المسئولة عن تنظيم دورة الخلية ونقل الإشارات (Gatekeeper genes) ، وحدوث الطفرات والاضطرابات في هذه المجاميع وغيرها من الجينات سيؤدي الى اضطراب وظائف الخلايا وبالتالي دخولها مسارات التسرطن ، ومن الجدير بالذكر انه في الانسان يكون الجين *P53* وهو من الجينات الكابحة للاورام يكون بمثابة مناطق ساخنة وحساسة جدا للتطفير واضطرابه يؤدي الى ظهور انواع مختلفة من السرطانات (Greenblatt واخرون ، ١٩٩٤) ، وهذا يمكن ان يربط بما معروف عن علاقة توليد السرطانات بالتطفير الوثيقة اذ ان الاثنين تبدأ من طفرات في المواد الوراثية ، وتحتاج عملية التسرطن الى عدد من التغيرات كي تدخل الخلايا مسار التسرطن وتصبح الأورام اكثر ضراوة عند زيادة التغييرات الحاصلة (Kada واخرون ، ١٩٨٦) . اما تاثير المعاملات والعقار لمدة طويلة على الخلايا التكاثرية (النطف) فموضحة نتائجه في الشكل (٥) ، والشكل (٦) يوضح تفاصيل انواع التشوهات التي ظهرت على النطف فالمعاملة بالعقار ولمدة شهرين ادت الى ارتفاع عدد تشوهات النطف بشكل كبير اذ وصلت الى (١٨) ضعف الحالة الطبيعية التي تشكل في الفئران بعمر (١٠) أسابيع نسبة تتراوح بين ٠.٥- ٢ % (Krzanowska ، ١٩٨١) ، في حين ان اطعام الفئران بالرشاد وبتداخلات مختلفة ادى الى خفض التشوهات واصبحت (٣ – ٣.٥) ضعف الحالة الطبيعية ، وتفاصيلها الموضحة في الشكل (٦) تشير الى انخفاض معظم التشوهات عن السيطرة الموجبة وبفروق معنوية ($P<0.01$) ، ولكن معظمها كانت تفرق بشكل معنوي عن السيطرة السالبة ايضا ما عدا المعاملة (R+Cp) التي ادت الى خفض عدد النطف ذات الرأس العصوي الى المستويات الطبيعية وبدون فروق معنوية ، واغلب المعاملات ادت الى الانخفاض وبدون فروق معنوية فيما بينها ما عدا المعاملة (R/Cp) التي كانت النطف ذات الرؤوس الضامرة أعلى وبفرق معنوي ($P<0.01$)عن المعاملتين الاخرى . وتشوه النطف يعد دليلا على حدوث اضرار في المواد الوراثية لذلك يستعمل الفحص لهذا الغرض (Wyrobek و Bruce ، ١٩٧٥ و Topham ، ١٩٨٠) نتيجة للتداخل مع سلامة DNA والتعبير عن المعلومات الوراثية (Wyrobek و Bruce ، ١٩٧٥) . ويفضل استعمال النطف للكشف عن المطفرات والمسرطنات نظرا لطبيعة النطف الخاصة فهي خلايا متخصصة جدا ووظائفها محددة وتشكل المادة الوراثية المكون الرئيس في الخلية (Phillips ، ١٩٧٤) ، كما انه يمكن الحصول على اعداد كبيرة منها من الفئران وتمثل هذه الحيوانات الاختيار الأفضل لمثل هذه الفحوص (Heddle و Salamone ، ١٩٨١) . وتشوه النطف يمكن ان يكون على شكل قلة الحركة او قلة الاعداد او زيادة النطف ذات الرؤوس المشوهة والأخيرة تعد الأكثر حساسية في الكشف عن المطفرات (Wyrobek ، ١٩٨١) ، وتشوه النطف بالمواد المطفرة يمكن ان يؤدي الى العقم كما أثبتت الدراسات (Prival واخرون ، ١٩٧٧) وهذا يعني انها تقلل الخصوبة كما انها تؤدي الى الإجهاض (Akutsu واخرون ، ٢٠٠١) ، ويكشف الفحص عن المواد المؤذية عند دخولها الجسم بطرق مختلفة مثل الاستنشاق (Ribeiro واخرون ، ١٩٨٧) وغيرها من الطرق ، وتميل الملوثات للتجمع في الأعضاء التكاثرية خاصة الخصى مقارنة بالمبايض ومثل هذه الحالات يمكن ان تؤثر على التكاثر وبالتالي اختفاء أحياء معينة من البيئة حتى وان لم تكن بتراكيز سامة (Murty ، ١٩٨٨) .



الشكل (٦) : تأثير اطعام الرشاد لمدة طويلة في انواع تشوه رؤوس النطف

ويتعرض الانسان الى المواد الضارة سواء من البيئة المحيطة او مما يتناول من الاغذية مثل الامينات المتباينة الحلقات التي تنتج من طبخ الاغذية البروتينية ولا يمكن تجنبها (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) وتؤدي الى تنشيط بعض الانزيمات مثل CYP 1A2 التي تؤدي بدورها الى إنتاج بعض المتايضات مثل إنتاج ايون Nitrenium الذي يرتبط الى القواعد النتروجينية في DNA وبذا يمثل الايون مسرطن نهائي (Colvin واخرون ، ١٩٩٨) . والخلايا حقيقة النواة تمتلك مدى واسع من القابليات لاصلاح الأذى الكيميائي والفيزيائي الذي يصيبها (Flamm و Mehlam ، ١٩٧٨) ، ولكن المواد الضارة قد تفوق القابليات والآليات الذاتية للخلايا ، ولكن بعض المواد يمكن ان تساعد في زيادة قابليات الخلايا على الاصلاح ومنها الاغذية الحاوية على المواد الفعالة مثل نباتات العائلة الصليبية والتي تعمل باليات مختلفة فهي قد تمنع وصول المواد الضارة (Desmutagens) او تعمل بعد حصول الضرر (Steinmetz و Pottor ، ١٩٩١) . والرشاد من النباتات الصليبية الذي يقلل من تدمير DNA ويمنع تكون ACF المستحثة بالمسرطن الغذائي (IQ) الذي يسبب سرطان الكبد والقولون (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) . ويمكن ان تمنع نباتات العائلة الصليبية السرطانات في مرحلة البدء او في مراحل اخرى (Garsl-Kraupp واخرون ، ١٩٩٤ و Smith واخرون ، ١٩٩٨) ، وقد سجل للرشاد تاثير ضد التطفير تجاه عدد من المبيدات عند استعمال البكتريا *Salmonella typhimurium* السلالات TA100 TA98 نظرا لاحتوائها على الكلوتاثايون والسستيئين وحامض الاسكوربيك (Kalaycioglu واخرون ، ١٩٩٧) . ، ويمتاز الرشاد باحتوائه على احد مركبات Isothiocyanates (ITCs) هو Glucotropaeolin ، ومركبات ITCs والاندولات تكثر في الرشاد وباقي نباتات *Brassica* (Kassie واخرون ١٩٩٩) وهي مواد تحمي الإنسان (Wattenberg ، ١٩٧٧ و Talalay و Fahey ، ٢٠٠١) ٍ . وتحوي نباتات *Brassica* على مواد اخرى منها الفينولات المتعددة والفلافونات والكاروتين اضافة الى الكلوروفيل وكل هذه المواد تعد من المواد الحامية ضد الأضرار خاصة التاكسدية التي تصيب DNA (Kassie واخرون ١٩٩٩) ، اضافة الى عملها باليات اخرى منها حث الانزيمات المزيلة للسمية ومنها انزيم Glutathion –S- transferase (GST) الذي يستحث بنباتات *Brassica* ضد الهيدروكاربونات متعددة الحلقات التي تعد من المسرطنات القوية (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣ و Sparnins واخرون ، ١٩٨٢) . ويمكن ان تـ ـث الموت المبرمج في الخلايا التي لا يمكن اصلاح الاضرار فيها ، كما انها تساعد الخلايا في تغيير نمط نقل الإشارات في الخلية فضلا عن خلبها لبعض المعادن (Kapiszewska واخرون ، ٢٠٠٥) ، والحقيقة ان النباتات الصليبية تختلف في نمط الحماية الذي توفره اعتمادا على العضو الذي تصل إليه المسرطنات ،فالبعض تمنع نشوء الأورام والاخرى تمنع تطور الأورام (Kassie واخرون ، ٢٠٠٣) .

وعليه فان البحث عن Potential nutraceuticals لابد ان يبدأ من دراسة السمية الوراثية Genotoxicity ويجب ان تكون داخل الانظمة الحية لمعرفة مدى تعرضها للعمليات الايضية ومدى امتصاصها وإفرازها ، وتقدير مدى الحماية الذي توفره ثم البدء باستعمالها (Yen واخرون ، ٢٠٠١) ، وبشكل عام يكون أغناء الغذاء اليومي بمضادات الاكسدة وغيرها من المواد المفيدة هي الوسيلة الفعالة في مواجهة الأخطار المحيطة بالكائنات الحية .

EFFECT OF LONG TERM ADMINISTRATION OF GARDEN CRESS (*LEPIDIUM SATIVUM*) ON SOME CYTOGENETIC PARAMETERS IN WHITE MICE

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 adverse effect of long term administration of Cyclophosphamide (Cp) , and the revesrse effect of garden cress on some cytogenetic parameters was studied in bone marrow cells . The parameters were mitotic index (MI) , formation of micronuclei (Mn) , and chromosomal aberrations (Ch. ab.) in somatic cells, as well as in germ cells (Sperms) . The treatments included administration of Cp for 2 months as a positive control , negative control was without any treatment . The other treatments were : feeding the animals with garden cress for a month with the normal meal (1:1) and then administration of Cp with normal meal only (R/Cp) ; the other treatment was feeding the garden cress with normal meal for 2 months and giving the animal the Cp (R+Cp) ; the third treatment was administrating the Cp for a month , then feeding the garden cress with the meal (1:1) for a month (Cp/R) . Results revealed that Cp treatment reduced the MI by 44 % of the normal value (6.84) , treatment (R/Cp) raised the index to 73.5 % of the normal value , (R+Cp) treatment raised the index to 87.9 % and Cp/R raised the index to 84.6 % of the natural value . Cp induced high number of micronuclei (18.16) compared to the negative control (1.62) , R/Cp treatment reduced the number to 6.56 , R+Cp treatment reduced the number to 6.11 , and Cp/R to 5.82 . All these values were significantly differed from the negative control ($P<0.01$) . Cp raised the Ch. ab. to (17) compared to the natural value (1.62) , and were differed significantly($P<0.01$) .They were R/Cp (6.06) , R+Cp (4.37) and Cp/R (4.81) and these variations were conducted to the types of aberrations . Cp increased the sperm-head abnormalities to (21.01) compared to negative control (1.15) . All treatments reduced the number of abnormalities . R/Cp treatment reduced the number to 6.73 , R+Cp to 6.06 , Cp/R to 6.03 , all of them were higher than the negative control with statistical significance ($P<0.01$) , such treatments affected the types of studied abnormalities .

المصادر

حسن ، مفيد قائد (٢٠٠٢) . استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط التأثير السمي الوراثي لبعض العقاقير المضادة للسرطان في الفأر . أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم / قسم علوم الحياة ، جامعة بابل – العراق .

Akutsu, H.; L. Tres; H. Tateno; R. Yanagimachi and A. Kiersznbaum (2001) .Offspring from normal mouse oocytes injected with sperm heads from the *azh/azh* mouse display more sever sperm tail abnormalities than the original mutant. Biol. Reprod. 64 : 249 – 256.

Allen, J; C. Shuler; R. Mendes and S. Latt (1977). A simplified technique for *in vivo* analysis of sister chromatid exchange using 5 – bromro – deoxy uridine. Cytogenet. Cell Genet. 18 : 231 – 237.

Ashby, J. (1981). Tests for Potential Carcinogens : Unsolved Problems . *In* "Short – Term Tests for Chemical Carcinogens".H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Atlas, R.; A. Brown and C. Parks (1995). Manual of Experimental Microbiology. Mosby Co. New York .

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

Colvin, M.; F. Hatch and J. Felton (1998). Chemical and biological factors affecting mutagen potency . Mut . Res . 400 : 479 -492 .

Dobrzynska, M. and A. Gajewsk (2000). Induction of micronuclei in bone marrow and sperm head abnormalities after combined exposure 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 .

Edenharder, R.; G. Kerkhoff and H. Dunkelberg (1998). Effect of carotene, retinol, riboflavin , alpha – tocopherol and vitamin C on sister chromatid exchanges induced by 3 – amino 1 – methyl – 5 – H- pyrido [4,3 –b] indole (Trp-p2) and cyclophosphamide in human lymphocyte cultures . Food Chem. Toxicol . 36 : 897 – 906 .

Flamm, W. and M. Mehlam (1978). Advances in Modren Toxicology " vol .5 Mutagenesis . John Wiely and Sons , New York , London .

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 P . Shields (2003) . Food Mutagens . J . Nutr. 133 : 965S – 973S.

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 rat liver . Proc . Natl . Acad. Sci . 91: 9995 -9999.

Greenblatt, M.; W. Bennett; M. Hollstein and C. Harris (1994). Mutations in the P53 tumor suppressor gene : clues to cancer etiology and molecular pathogenesis . Cancer Res . 54 : 4855 – 4878 .

Heddle, J.; A. Raj and B. Alena. (1981). The Micronucleus Assay II . *Invitro*. *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Heddle, J.; M. Hiet; B. Kirkhart; K. Mavoumin; J. MacGregor; G. Newell and M.Salamone(1983).The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity : A report of the U.S.Environmental Protection Agency gene- tox program Mut . Res .123: 61- 118

Kada , T. ; T. Inoue ; K. Morita and M. Namiki . (1986) . Dietary Desmutagens . *In* " Genetic Toxicology of the Diet " I . Knudsen (Ed.) , Alan, R. Liss . Inc. : New York .

Kalaycioglu , A . ; A . Oner and G . Erdem (1997) . Observation of the antimutagenic potentials of plant extracts against pesticides in the *Salmonella typhimurium* strains TA98 and TA100 . Turk . J . Bot . 21 : 127 – 130 .

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.; 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 .

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

Krzanowska , H . (1981) . Sperm head abnormalities in relationship to age and strain of mice . J . Reprod. Fert. 62 : 385 -392 .

Legator , M . and S. Rinkus (1981) . Mutagenicity : Problems in Application . *In vitro* . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg.

McDermott, A. (1975). Cytogenetics of Man and Other Animals. Chapman and Hall . London .

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

Murty, A. (1988). Toxicity of Pesticides to Fish. vol II.CRC Press Inc.Boca Roton , Florida.

Phillips, D. (1974). Sperminogenesis. Academic Press. NewYork, London .

Prival, M.; E. McCoy; R. Gutter and H. Rosenkranz (1977). Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate : mutagenicity of a widely used flame retardant . Science 195 : 76 – 78 .

Ribeiro , L . ; D. Salvadori ; C . Pereira and W . Becak (1987) . Activity of ethylene oxide in the mouse sperm morphology test . Arch . Toxicol.60:331 - 333 .

Rosin , M. (1981) . The Use of a Bacterial Assay to Identify which Agents Modify Carcinogen – Induced Mutagenesis . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.). Springer –Verlag : New York , Heidelberg .

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

Shand, F. and J. Howord (1979). Induction *in vitro* of reversible immunosuppression and inhibition of B cell receptor regeneration by defined metabolites of cyclophosphamide. Eur. J. Imunol . 9 : 17 – 21 .

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 dimethyl hydrazine – induced aberrant cryptic foci and induction of apoptosis in rat colon following oral administration of the glucosinolate sinsngrin. Carcinogenesis 19 : 267 - 273 .

Sotomayer, R. (1979). Spermatid head abnormalities in translocation heterozygote from EMS- or CAP- treated sires . Environ. Mutag. 1 : 129 .

Sparnins, V.; P. Venegas and L. Wattenberg (1982). Glutathione – Stransferase activity: enhancement by compounds inhibiting chemical carcinogenesis and by dietary constitutes .J. Natl . Cancer Inst.68:493 – 496

Steinmetz, K. and J. Potter (1991). Vegetables, fruits and cancer. I–Epidemiology . Cancer Causes Control 2 : 325 -357 .

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

Stoltz , D . (1981) . Detection of Cocarcinogens and Anticarcinogens with Microbial Mutagenicity Assays . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New

Strickland,P.and J.Groopman(1995).Biomarkers for assessing environmental exposure to carcinogens in the diet . Am . J.Clin.Nutr. 61 : 710S – 720S .

Thompson , M . ; R. McInnes and H . Willard (1991). Clinical Cytogenetics : General Principles and Autosomal Abnormalities . *In* . " Genetics in Medicine " . Saunders, W.B. Comp . UK .

Topham , J . (1980) . The detection of carcinogen induced sperm head abnormalities in mice . Mut . Res . 69 : 149 – 155 .

Wahnschaffe , U . ; A . Bitsch ; J . Kielhom and I . Mangelsdrof (2005) . Mutagenicity testing with transgenic mice part I : comparison with mouse bone marrow micronucleus test . J . Carcino . 4 : 1 – 30 .

Wyrobek , A . (1981) . Methods for Human and Murine Sperm Assays . *In* " Short – Term Tests for Chemical Carcinogens " . H . Stich and R . San (Eds.) . Springer – Verlag : New York , Heidelberg .

Wyrobek , A . and W . Bruce (1975) . Chemical induction of sperm abnormalities in mice . Proc . Natl . Acad . Sci . 72 : 4425 – 4429 .

Yen , G . ; H . Chen and H . Peng (20010 . Evaluation of genotoxicity , mutagenicity and antimutagenicity of emerging edible plants . Food Chem . Toxicol . 39 : 1045 -1053 .