التأثير السمي الخلوي للمستخلص الأثيلي الخام لأوراق نبات المعدنوس في خط خلايا سرطان الرحم Hela

عباس عبد الله محمد* و شلال مراد حسين ** و أفنان أسماعيل عبدالوهاب*

تاريخ التسلم:2011/3/27
تاريخ القبول:2011/6/2

الخلاصة

تم التحري عن التأثير السمي الخلوي للمستخلص الاثيلي الخام لأوراق نبات المعدنوس في خط خلايا سرطان الرحم (HeLa) ، أذ تم أخذ تراكيز مختلفة من المستخلص 125, 250, 500, (0.95, 1.9, 3.8, 7.7, 15.5, 31.25, 62.5, 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 10000, 12000, 14000, 16000) مكغم/مل ، فلوحظ عدم وجود تثبيط عند التراكيز(125, 62.5,31.25,15.5,7.7,3.8,1.9,0.95) مكغم/مل اما التراكيز(1000,500,250) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط نمو خلايا عندها اقل من 50 % وعند التركيزين (4000,2000) مكغم/مل فكانت نسب التثبيط (63%,66%) على التوالي اما التراكيز (16000,14000,12000,10000,8000,6000) مكغم/مل فكانت نسبة تثبيط نمو الخلايا عندها عالية تجاوزت 70% لذلك تم اعتماد هذه التراكيز والأخذ بها واختبار فعاليتها في القتل لفترات تعرض مختلفة هي 72,48,24 ساعة . توصلت الدراسة إلى وجود تأثير سمي قاتل للمستخلص الكحولي للنبات عند التراكيز الست المعتمدة أذ تراوحت نسب التثبيط للخط الخلوي السرطاني (HeLa) من 73.840% عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 79.238 % عند التركيز 16000 مكغم/مل لفترة تعرض 24 ساعة وكانت النسب من 79.930 % عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 86.505 % عند التركيز 16000 مكغم/مل عند فترة التعرض 48 ساعة وكانت من82.353%عند التركيز 6000 مكغم/مل إلى 88.581 %عند التركيز16000مكغم/مل عند فترة التعرض 72 ساعة . من هذه النتائج يمكن الاستنتاج بان نبات المعدنوس يعد من أهم النباتات الطبية الواعدة ذات الدور الفعال في معالجة السرطان من خلال تأثيره التثبيطي والسمي القاتل في الخلايا السرطانية .

The Cytotoxicity Effect of Ethanolic Crude Extract of Petroselinum Crispum on Cancer Cell Line Hela

Abstract

This study amid to investigate the effects of ethanolic crude extract of *Petroselium cripum* leaves on the proliferation of the cancer cell line HeLa .

The cytotoxicity of cancer cell line of concentration of (0.95, 1.9,3.8,7.7,15.5,31.25,62.5,125,250,500,1000,2000,3000,4000,6000,8000, 10000, 12000 and 16000)µg/ml showed there was no inhibition observed at concentration (o.95,1.9,3.8,7.7,15.5,31.25and 62.5)µg/ml. While at concentration of 250,500 and 1000 mg/ml the inhibition percentage was less than 50%.But at concentration of 2000 and 4000µg/ml the inhibition percentage was(63%,66%) respectively at while after

* قسم العلوم التطبيقية, الجامعة التكنولوجية/بغداد
**المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية, الجامعة المستنصرية /بغداد

https://doi.org/10.30684/ etj.29.12.18
University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq/2412-0758
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

48hrs the concentration of (6000,8000,10000,12000,14000 and16000)µg/ml the inhibition percentage was more than70% this study was found that the alcoholic extract hase toxic effect on cancer cell line ,on the inhibition percentage of HeLa cell line was 73.840% and 79.238% at concentration of 6000µg/ml and 16000 µg/ml after 24hrs the percentage79.930% at concentration 6000 µg/ml to 86.505% at concentration16000 µg/ml after 48hrs. exposure and the percentage was 82.353% at concentration 6000 µg/ml to 88.581% at concentration16000 µg/ml after 72hrs .From this result we can conclude that this plant have a promising medical plant effect on cancer,through out the toxic effects on cancer cell line .

Keywords: Effect extracted of Petroselium crispum on cancer cell line HeLa.

المقدمة

درس العلماء بصورة مستفيضة في اقطار مختلفة من العالم العديد من المستخلصات النباتية لتوضيح المكونات الكيميائية المؤثرة وراثياً، وتعد الدراسات المتعلقة بهذا الموضوع ذات طابع مهم في جوانب المعرفة العلمية والتطبيقية،أذ برزت في الآونة الاخيرة دراسات متخصصة بالنباتات الطبية بعد كشف النقاب عن مكانتها في الطب الحديث فأولت منظمة الصحة العالمية (WHO)أهمية كبيرة في توسيع استعمال الأدوية من المصادر النباتية بدلا من الادوية المصنعة كيميائيا[1] فكانت الدراسات التي قام بها العديد من الباحثين في المراكز البحثية والمتاحف المتخصصة عن الأهمية الكبيرة لبعض المستخلصات النباتية واعطت للمهتمين فرصاً تم من خلالها التعرف على الكثير من التراكيب الكيميائية ذات الفعالية الطبية,فعلى سبيل المثال لا الحصر لوحظ للعديد من المستخلصات النباتية تأثير مضاد لبعض السرطانات لاحتوائها على مركبات تؤثر في آليات الانقسام الخلوي من خلال تأثيرها في تضاعف الحامض النووي الـ DNA اوأحد الانزيمات المهمة في التضاعف والتي تمنع تكوين الأنبيبات الدقيقة لخيوط مغزل انقسام الخلية كمادة الكولجيسين Colchicine المستخلصة من نبات Colchicum cwtumnale اذ تمنع بلمرة بروتين tubulin مما تؤدي الى توقف الكروموسومات في الطور الاستوائي وبالتالي تمنع أتمام عملية الأنقسام الخلوي[2] .كذلك الحال مع مادة Benzo phenanthridin وهي من القلويدات التي تعمل على تثبيط الأنقسامات المتعددة لبعض انواع خلايا الخطوط السرطانية للانسان والمقاومة للعقاقيرالطبية ودفعها الى الموت المبرمج Apoptosis [3] .لذا عدت بعض المستخلصات النباتية الطبية كمضادات التسرطن Anti–carcinogens ومضادات السرطان Anti–cancer[4] .

تزايدت اهمية النباتات الطبية عندما اتضح دورها في حماية المادة الوراثية من تأثير المطفرات البيئية وقابلية مكوناتها على تصحيح الآخطاء الوراثية التي تحدثها هذه الطفرات[5] . ونظرا الى ما تقدم اختير نبات المعدنوس Petroselinum crispum وهو نبات عشبي ثنائي الحول لهذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل

وزن 100 غم من مسحوق اورق النبات على دفعتين كل دفعة 50 غم ،ووضعت كل دفعة داخل كشتبان Thumble ووضعت في جهاز

ساكسوليت Soxhlet حاوٍ ايضاً على 300 مل من الكحول الاثيلي (80%) مدة 4-5 ساعات لغرض الاستخلاص.بعد ذلك أخذ المستخلص الكحولي لاوراق النبات ووضع داخل الحاضنة Incubater تحت درجة 37م حتى أكتمال جفافها من الكحول.

الخط الخلوي السرطاني(HeLa) Henritta Lacks

استعمل هذا الخط عند التمريره (248) وهو خط سرطان الرحم لأمرأة تدعى Henritta Lacks سنة 1951 وهذا الخط تم تطبيعه للنمو على وسط MEM وعند تكون الطبقة الاحادية الكاملة(Confluent monolayer) تمت معاملة الخلايا بمحلول التربسين-فرسين وذلك لتهيئة المزرعة الثانوية Subculture.

تحضيرالوسط الزرعي للخط الخلوي السرطاني Preparation of medium of cancer cell line

تمت تهيئية الوسط الزرعي وفقآ[6] بخلط مكوناته مع بعضها البعض لتحضير 1 لتر منه , ومن ثم عقمت بأستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 مايكرون, ثم وزع الوسط الزرعي في قناني زجاجية ذات غطاء محكم سعة 200 مل وحفظت في القناني بدرجة حرارة - 20مْ الى حين الأستعمال. تم الحصول على الخطوط السرطانية من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية . تم أجراء الخطوات الخاصة بالزرع النسيجي تحت ظروف معقمة كالأتي :

1- أضيف 2 مل من محلول التربسين/ فرنسين الى قنينة الزرع النسيجي بحجم 25سم^3 الحاوية على الخلايا بعد تفريقها من الوسط الزرعي القديم ثم حركت القنينة برفق وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ مدة 15 دقيقة لتفكيك الخلايا الملتصقة وكذلك خلخلة التصاقها بجدار القنينة للحصول قدر الأمكان على خلايا أحادية مفردة.

2- أضيفت الى القنينة الحاوية على الخلايا المتفككة ما يقارب 15 مل من وسط نمو جديد (RPMI-1640) وتم تحريك القنينة جيدآ وبعدها أفرغت محتويات القنينة الحاوية على الوسط الزرعي الجديد مع الخلايا الى قنينة أخرى جديدة بحيث يكون مستوى الوسط الزرعي مع الخلايا متساو بين القنينتين أي كل قنينة وضع فيها نفس الحجم تقريباً من الوسط الزرعي مع الخلايا وتسمى هذه العملية بالمزرعة الثانوي (Subculture).

3-حضنت القناني بدرجة حرارة 37مْ مدة يومين (الطبيعة اللوغارتمية لنمو الخلايا) , بعد أن كتب عليها معلومات كاملة عن نوع الخلايا ونوع التمريرة الجديدة (New passage) وتم أجراء المزرعة الثانوية, وتمت متابعة القناني يوميا للتأكد من خلوها من أي تلوث وأن الخلايا بحالة جيدة وذلك بفحصها بواسطة المجهر المقلوب(Inverted microscope) وعندما يصبح النمو داخل القنينة جيدآ فأن الخلايا تكون جاهزة للأستعمال.

أختبار سمية المستخلصات الخام لنبات المعدنوس على تكاثر الخط السرطاني

أذيب 0.1غم من المستخلص الايثانولي الخام للاوراق النباتية في 10 مل من المذيب [9 مل PBS+1 مل (DMSO) Dimethyl sulfoxid], ثم عقم المستخلصان بأستعمال مرشح ذي ثقوب 0.22 مايكرون وحضرت منه ستة تراكيز هي (16000, 14000, 12000, 10000, 8000, 6000) مكغم/مل, وتحت ظروف معقمة, أستعملت جميع التراكيز المحضرة مباشرة بعد

إكمال عملية التحضيروحسب الخطوات التالية.

أ-جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة الزرع النسيجي حجم 25 سم ^{3} بمحلول التربسين/فرسين بعد تفريغ الوسط الزرعي القديم وتحريك القنينة برفق, ثم حضنت في بدرجة حرارة 37مْ مدة 15 دقيقة, ثم أضيف له 20 مل وسط النمو ، أستعمل وسط النمو MEM لخلايا الخط السرطاني Hela ثم تم مزج عالق الخلايا جيداً وتم نقل 0.2 مل بعد كل مزجة جديدة الى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي ذي القعر المسطح Microtiter plate for tissue culture بأستعمال ماصة أوتوماتيكية دقيقة.

ب-ترك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة الى حين التصاق الخلايا في الحفرة, بعدها تم التخلص من الوسط الزرعي القديم في الحفرة وتم أضافة 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقا في كل حفرة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز. تم عمل ثلاثة مكررات للسيطرة(خلايا فقط) مضاف لها وسط زرعي خالٍ من المصل Free media.

جـ-بعد مرور 24 ساعة أخرج الطبق من الحاضنة وأضيف إليه محلول صبغة البنفسج البلوري لجميع الحفر الحاوية على الخلايا بمقدار 0.2 مل لكل حفرة وكررت الخطوة نفسها بعد فترة حضن 48 و72ساعة.

د-أعيد الطبق مرة ثانية الى الحاضنة ليحضن مدة نصف ساعة ,وبعدها أخرج الطبق وأزيلت محتوياته وغسلت الخلايا بمحلول (PBS) الى حين زوال الصبغة الزائدة أذ أن الخلايا الحية تأخذ الصبغة أما الميتة فلا تأخذها.

هـ- قرأت النتائج بأستعمال ELISA بطول موجي492 نانومتر.

و-تم حساب نسبة التثبيط لكل تركيز .

التحليل الأحصائي

حللت النتائج أحصائياً باتباع التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD) ولمعرفة فيما أذا كانت الفروقات بين المعاملات معنوية أم لا , بأستعمال أختبار دنكن متعدد الحدود (Duncun multiple test) وبأستعمال البرنامج الأحصائي الجاهز SPSS [7].

النتائج والمناقشة

التأثير السمي للمستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدنوس في نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني

تم اختبار قدرة المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس على تثبيط نمو الخلايا السرطانيه خارج جسم الكائن الحي وقد عوملت هذه الخلويا بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي بدءا من التركيز 0.095مكغم/مل الى التركيز 16000مكغم/مل وقد تم اعتماد التراكيز الست الاعلى من 8000مكغم/مل الى 16000مكغم/مل لنسبة القتل العالية التي امتازت بها واهملت التراكيز القليلة وذلك لقابليتها الواطئة على القتل حيث تميزت التراكيز(من 0.095 الى 62.5)مكغم/مل بانعدام قابليتها على التثبيط اما التراكيز(من 125الى 1000)مكغم/مل فكانت لها نسب تثبيطية واطئة اقل من 50% اما التركيزين(4000,2000)مكغم/مل فكانت نسبة القتل 63.1%,66.3% على التوالي لذلك ارتئينا اخذ التراكيز الاعلى من ذلك والتي كانت تمتاز بنسب قتل من 70% فما فوق لفعاليتها في القضاء على نسبه اكبر من الخلايا السرطانية ولثلاث اوقات هي 72,48,24 ساعة واعتمد اختبار السمية الخلوية Cytotoxicity assay لتقويم تأثير تراكيز المستخلص في نمو الخلايا بدلالة

النسبة المئوية لمعدل التثبيط IR%، والذي يستخرج من المعادلة الاتية :

$$\%IR = \frac{A-B}{A} \times 100$$

[6]

حيث A تعني Control ، B تعني Test

الخط الخلوي السرطاني HeLa

عند معاملة الخط الخلوي السرطاني HeLa في التمريرة (248) بتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق النبات عند فترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة وجد ان له تأثيراً تثبيطياً عالياً للخلايا السرطانية لهذا الخط امتازت بزيادة التثبيط من التراكيز الاقل الى الاعلى ومن فترات التعرض الاقل الى الاكثر .

المستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس

يبين الجدول(1)ان للمستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس تأثيراً تثبيطياً كبيراً على نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa ولجميع التراكيز الستة المأخوذة وبفروق معنوية كبيرة عن مجموعة السيطرة وان نسب التثبيط تزداد من التركيز الاقل وهو 6000مكغم/مل الى التركيز الاعلى 16000مكغم/مل وكانت اعلى نسبة للتثبيط خلال فترة التعرض 72,48,24ساعه عند التركيز 16000مكغم/مل هي 79.238% ،86.505% ، 88.581% على التوالي وكما هو ملاحظ فأن نسبة التثبيط تزداد بزيادة التركيز وفترات التعرض وكانت اعلى نسبة للتثبيط للتراكيز الستة المأخوذة عند التركيز 16000مكغم/مل ولفترة التعرض72ساعة وان الشكل(1) يوضح نسبة التثبيط الكبيرة لخلاياالخط السرطاني HeLa وقلة عددها عند هذا التركيزوفترة التعرض مقارنة بخلايا الخط غير المعاملة بالمستخلص. ورغم هذه الفروق في نسب التثبيط بين التراكيز وفترات التعرض فأن هذه الفروق تعد غير معنوية احصائيا عند مستوى المعنوية (P>0.05) ولكن هذا لاينفي وجود هذه الزيادة في التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض ولكن تكون الفروق فيما بينها قليلة .لقد وجد ان لمعامل الارتباط بين تراكيز ونسب التثبيط علاقة طردية وعالية جدا ولفترات التعرض الثلاث وبلغت اعلى قيمة لمعامل الارتباط عند 48 ساع ة حيث كانت(0.982+) ثم عند 72ساعة حيث كانت(0.977+) وبعدها عند 24ساعة حين وصلت الى (0.970+) ، هذا يدل على ان التراكيز المأخوذة ذات قدرة تثبيطية عالية جدا لخلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa وهذا يبرهن على اهمية هذا المستخلص النباتي وفعاليتة الكبيرة في تثبيط نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa.

توصلنا في هذه الدراسة على نتائج التي دعمت ما توصل اليه العديد من الباحثين حول ما تمتلكه المستخلصات النباتية من فعالية مضادة للخلايا السرطانية وان هذه الفعالية تعتمد بشكل اساس على التركيز المستعمل وفترة التعرض كما تعتمد على نوع المستخلص والمركبات الفعالة فيه ومدى حساسية الخلايا السرطانية لكل ذلك.وان النتائج التي تحصلنا عليها والتي اثبتت تأثير المستخلص الكحولي لنبات المعدنوس وقدرته على التثبيط العالي لنمو الخلايا السرطانية للخط السرطاني HeLa والتي امتازت بزيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض حتى وان كانت بين التراكيز والفترات وهذا ما اشار له العديد من الباحثين في دراساتهم ومن هذه الدراسات ما قام به[8] على عشب السع Cyperus rotundus L. والذي أختبر قابليتة على تثبيط الخطوط الخلوية السرطانية AMN-3,RD,Hep-2 اذ أستخدم ثلاثة انواع من المستخلصات للنبات

هي الهكساني والمائي والايثانولي وبثمانية تراكيز مختلفة ولثلاث فترات تعرض 72,48,24 ساعة وبشكل عام كانت النتائج تمتاز بزيادة نسبة التثبيط بزيادة التركيز وفترة التعرض مع وجود اختلافات في نسب التعرض بأختلاف التراكيز والمستخلصات المستخدمة كذلك هذا ما لاحظناه في دراسة [9] اذ قامت الباحثة بأستخدام ثلاث انواع من المستخلصات النباتيه لنبات الكلغان .Silybum marianum L وكانت المستخلصات (المائي الخام، الايثانولي الخام، الزيتي الخام) واستخدمت تراكيز مختلفة للمستخلص ودرست تأثيرها في الخطوط السرطانية RD,AMN-3,Hep-2 والخط الطبيعي REF ولاحظت الباحثة ان نسبة التثبيط للخلايا السرطانية للخطوط الخلوية الثلاثة RD,AMN-3,Hep-2 تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض اما بالنسبة للخط الخلوي الطبيعي REF فأن النتائج لم تعط نسب قتل معنوية مع مجموعة السيطرة والفروق قليلة وغير مهمة احصائيا. وقد وجدت [10] في دراستها على قشور نبات الرمان ان هناك نسب تثبيط لنمو الخلايا السرطانيه للخطين الخلويين السرطانيين Hep-2,AMN-3 وان هذه النسب تزداد بزيادة التركيز وفترة التعرض حتى بلغت اعلى نسبة لتثبيط خلايا الخطين عند اعلى تركيز وهو 700مكغم/مل ولفترة تعرض 72ساعة وكانت النسبة (59.27%) للخط AMN-3 و(56.64%) للخط Hep-2 بينما في الخط الخلوي الطبيعي REF كانت نسب التثبيط عند التركيز 700مكغم/مل وبفترة تعرض 72ساعة هي(23%) والتي تعد قليلة بالنسبة لتثبيط الخلايا . كما لاحظ ت[11] امتلاك مستخلصات نبات الصفصاف فعالية تثبيط لسرطان الحنجرة البثري Hep-2 والـ AMN-3 ودراسة[12] عن تأثير اوراق المديد على الخطين الخلويين الـ Hep-2 والـ AMN-3 والخط الخلوي الطبيعي REF ودراسة [13] في دراسة تأثير المستخلصات النباتية لنبات التمر الزهدي لنمو سرطان Hep-2 والـ AMN-3.وقد تعزى قدرة النباتات المختلفة على تثبيط مختلف الخطوط السرطانية الى وجود المركبات الكيميائية الزيتية الموجودة في تلك النباتات.حيث ان النباتات والاعشاب الطبية تمتلك العديد من المركبات ذات الفعاليات المختلفة ومن هذه الفعاليات هي الفعالية السمية المثبطة للخلايا السرطانية داخل جسم الكائن الحي او خارجه وان لهذه المركبات عدة اليات من شأنها ان تؤدي الى تثبيط قدرة الخلية السرطانية والحد من نموها وانتشارها وقتلها[14] .

تمتلك نبات المعدنوس احد تلك النباتات الطبيعية الى العديد من هذه المركبات الفعالة والمؤثرة في القتل وتثبيط الخلايا السرطانية ومن هذه المركبات القلويدات اذ ان لهذه المركبات اهمية في تثبيط نمو الخلايا السرطانية وهذا ما نلاحظة في القلويد Isostry chnopentamino الموجود في الشجرة الافريقية Strychnos usambar ensis اذ انه يحدث عملية الموت المبرمج للخطوط الخلوية لسرطان القولون Hct-116 [15] .كما ان لقلويد Homohar ringtonine المعزول من جذور نبات Cephalotauns herringtona له دور في تثبيط الخلايا السرطانية من خلال تثبيط صنع البروتين والـ(DNA) [16].كما ان نبات المعدنوس يحتوي على الفينولات المتعددة Polyphenols والتي تحتوي على مركبات الفلافونات Flavonoids التي تعمل بوصفها مركبات ضد عملية الاكسدة Antioxidant في تأثيرها على الخلايا

السرطانيه[17] وهذا ما اشار اليه الحلي[8] ان المركبات الفينولية المتعددة ومن ضمنها الفلافونويد الموجود في عشب السعد لها دور كبير بأعتبارهاعوامل مضادة للاكسدة في فعاليتها التثبيطية للخطوط السرطانية (3 ,RD,AMN-Hep-2) معتمدا في ذلك على التراكيز ونوع المستخلص، كما ان لهذه المركبات القدرة على احداث التأثير السمي على سرطان البروستات Vascular Endothelial Growth factor(VEGF) والذي يكون مسؤول عن تكوين الاوعية الدموية الجديدة(Angiogensis) مما يعطي هذه المركبات دور اساسي في تثبيط وقتل الخلايا السرطانيه، كما بين[18] ان لمركبات الفلافونات تأثيرا تثبيطيا على نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) وكذلك الخط الخلوي السرطاني(S-L80) Sarcomy-L 80 وذلك عن طريق ايقاف عملية تضاعف الـ DNA عند مرحلة S-phase خلال دورة حياة الخليه ومن الجدير بالذكر ان اهمية هذه المركبات في عملة تثبيط الخلايا السرطانيه للخطوط الخلويه السرطانيه المختلفه جاءت من قدرة هذه المركبات في التأثير على الاليه السرطانية من خلال تثبيط فعالية الجين Bcl-2 [19]ونتيجة للخلل الحاصل في هذا الجين تدخل الخلية السرطانية مرحلة الموت المبرمج Apoptosis كما هو الحال في العديد من الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان الدم البشري Human Leukemic cell Lines [20] ولكفاءة فعالية هذه المركبات فهناك العديد من الخطوط الخلوية السرطانية التي لها القدرة على تثبيطها مثل سرطان الثدي (Bc1) وسرطان القولون البشري (colo320)وسرطان الرحم البشري (CASKI) وسرطان البروستات البشري [22.21].

تمتاز المركبات الفينولية المتعددة وخاصة تلك المضادة لعملية الاكسدة القدرة على تثبيط نمو الخلايا السرطانية والحد من انتشارها وذلك لامتلاكها القابلية في كسح Scavenger الجذور الحرة المتولده عند تحول الخلايا من الطبيعية الى خلايا سرطانية [22].وان التربينات الموجودة في اوراق نبات المعدنوس والتي تمثل احد مركباته لها دور مؤثر والقدرة على تثبيط نمو خلايا سرطان المعدة من خلال قدرتها على خفض تصنيع الـ DNA وحث الخلايا على الموت المبرمج للخط الخلوي السرطاني Leukemia cell HL-601،وان لهذه المركبات اهمية بالغة في تثبيط وكذلك الحد من انتشار خلايا الخط الخلوي السرطاني Human Myelogenous Leukemia وذلك من خلال ايقاف الدوره الخلوية عند طور G1 [23].

لوحظ ان التأنينات Tanins الموجودة في اوراق النبات لها تأثير واضح على الخلايا السرطانية للخط الخلوي السرطاني (HL-60) وذلك من خلال تجزئة شريط الـ DNA وحث الخلايا نمو الموت المبرمج [24].وتحتوي اوراق نبات المعدنوس ايضا على الصابونيات التي لها دور فعال في تثبيط الخلايا السرطانية وذلك من خلال ميكانيكيات متعددة وهذا ما لوحظ في نبات Acacia victoria حيث ان لها دور تثبيطي انتقائي في نمو الخطوط الخلوية السرطانية بواسطة توقف دورة الخليه في سرطان الثدي عند الانسان وكذلك تحدث الموت المبرمج للخلية في الخط الخلوي لسرطان الدم[25] وهذا ما لوحظ ايضا في العشبة الصينية Panax

gensing حيث انها استخدمت لعلاج السرطان بسبب قدرتها على تثبيط السرطان في الحيوانات المختبرية[26] .

يحتوي نبات المعدنوس ايضا على فيتامين -C- الذي يمتاز بأمتلاكة قدرة تثبيطية عالية للخلايا السرطانية من خلال فعاليتة المضادة للاكسدة Anti–oxidation اذ انه يكون ساماً للخلايا السرطانية من خلال عملية ازالة الجذور الحرة المتولدة بتكون الخلايا السرطانية[27] .من هذا كله يتوضح لنا اهمية نبات المعدنوس كنبات طبي فعال لقابليتة التثبيطية في تثبيط نمو الخلايا السرطانية اضافة الى اهميتة في معالجة امراض مختلفة اخرى.

المصادر

[1]Islam,M.W.R;Radhakrishnan,X. M.;Liu,H.B. and AL-Naji,M.A.(1994). Safety evaluation of *Zizyphus spinachristi* L.and *Teucrium stocksianum* biss.,used in traditional medicine in the Arabian Gulf.Planata med.71:280-283.

[2] Usui,T.;Kondoh, M.; Cui, C-B., Mayami,T. and Osada,H. (1998). Tryprostatin A,aspecific and novel inhibiton of microtubule assembly.Biochem.J.,333:543-548.

[3]-Lopus,M.and Panda,D.(2006).The enzophena thridine alkaloid sanguinarine perturbs micro-tubule assembly dynamic through tubulin binding.A possible mechanism for its antiproliferative activity .J.FEBSIO:2139-50.

[4]Gurib-Fakim,A.(2005).Medicinal plants.Tradition of yesterday and drugs tomorrow.Molecular Aspects of Medicine.6:65-71.

[5]Manosroi,J.;Dhumtanoma,P.and Manosoi,A.(2005).Anti-prolif.erative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines.cancer letters:1-7.

[6]Freshney,R.I.(2000).Culture of animal cell:Amanual for basic technique (4^{th}ed). John wiley and Sons, Inc. Publication, New York

7العقيلي، صالح رشيد والشايب، محمد سامر(1998). استخدام البرنامج الاحصائي SPSS. مطبوعات الجامعة، دار الشرق للطباعة، صفحة358.

8-الحلي، زيد عبد المنعم علي(2009).دراسة التأثير السمي والمضاد للأكسدة والمضاد لتكوين الاوعية الدموية الجديدة والحث على عملية الموت المبرمج للمستخلصات الخام والمنقاة جزئياً لعشب السعد *Cyperus rotundus* L. في مختلف الخطوط الخلوية السرطانية. اطروحة دكتوراه،معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الأحيائية-جامعة بغداد.

9- سلمان، اسراء صكبان(2008) .تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان *Silybum marianum L.* على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية، رسالة ماجستير، كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد.

10-السعدي، اسيل ياسين كاظم(2008). تأثير المستخلص المائي الخام لقشور الرمان على خطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج والفئران، رسالة ماجستير، كلية العلوم-الجامعه المستنصرية.

11-الموسوي، ازهار جعفر(2006). دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات الصفصاف *Salix acmophylla* في نمو الخلايا الخلويه السرطانيه والخلايا اللمفاويه الطبيعيه للانسان خارج الجسم. رسالة ماجستير، كلية التربيه-جامعة كربلاء.

12-السعدي،نمارق هادي منصور(2008).تأثيرالمستخلص القلويدي الخام للاوراق المديد *Convolvulus arvensis L.* في الأنقسام الخلوي .رسالة ماجستير.كلية العلوم-جامعة بغداد.

13- الجريصي، ياسر حسن زيدان.(2007) دراسة تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى التمر الزهدي *Phoenix dactylifera* Cultivar Zahdi في تثبيط نمو بعض خطوط الخلايا السرطانيه في الزجاج وفي علاج سرطان الغدة اللبنيه المغروس في الفئران البيض.رسالة ماجستير. كلية العلوم-جامعة بغداد.

[14] Mori, T.; Ohnishi ,M. ;Komigama, M. ;Tsutsui, A. ;Yabnshita, H. and Okada,H.(2002).Growth inhibitory effect of *Paradicsom paprika* in cancer cell lines. Oncology Reports, 9:807-810.

[15]Frederich, M.; Bentires-Alj, M.; Tits, M.; Angenot, L.; Greiners, R.; Gielen, J.; Bours, V. and Merville, M. P.(2003). Isostrychnopentamine an indolomonoter Penice alkaloid from *human Strychnos usambarensis* ,induces cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells, Journal of prarmacology and experimental therapeutics fast forward, 304(3):1103-1110.

[16] Alexandrova, R.; Varadinova, T.; Velcheva, M.; Genova, P. and Sainova, I.(2000). Cytotoxic effect of isoqyinoline alkaloids on tumor cell lines, Experimental pathology and parasitology, 4:8-14.

[17]Lopez-Lazaro, M. ; Galvor, M.; Martin-Lorder, C. and Ayuso, M. J.(2001). Cytotoxicity of flavonoids on Cancer cell Line. Structure-activity relation-ship.Med.chem., 1:82-114.

[18]Elangovar,V.; Ramamrthy, N.;Balasubrama bian,S.;Sekar,N.and Govidsany (1994). Studies on the antiproliferative effect of some naturally occurring bioflavonoidal compounds against human carcinoma of larynt.Cancer Res.46(6) 1505-1508.

[19]Caceres-Cortes, J.R.; Cantu-Graza,F.A.; Mendoza-Mata, M.T.; Charez-Gonzales ,M.A.Ramos-Mandujano,G. and Zambrano-Ramires , I.R. (2001). Cytotoxic activity of Justica-Spicigera is inhibited by Bcl2 proto-oncoyenes and induces apoptosis in a cell cycle dependent fashion, phytothes.Res.,15:691-697.

[20]Pellechia, M.I. and Reed,J.C.(2004).Inhibition of anti-apoptosis BC1-2 family proteins by cancer chemoprevention and chemotherapy Curr.Pharm.DES.,10:1387-1398.

[21]Lopez-Lazaro, M.(2002). Flavonids as anticancer agents: structure –activity relation shaip study. Curr. Med. Chem., :691-714.

[22]Forkmann,G. and Martens, S.(2001). Metabolic engineering and applications of flavonoids, Curr.Opinion Biotech.,12:155-160.

[23]Sadeghi,H and Yazdanparst,R.(2003).Antitumor Activity and cell cycle arrest of a new Diterpene Ester from *Daphne mucronata*.C.M.A.J.168:1147-1149.

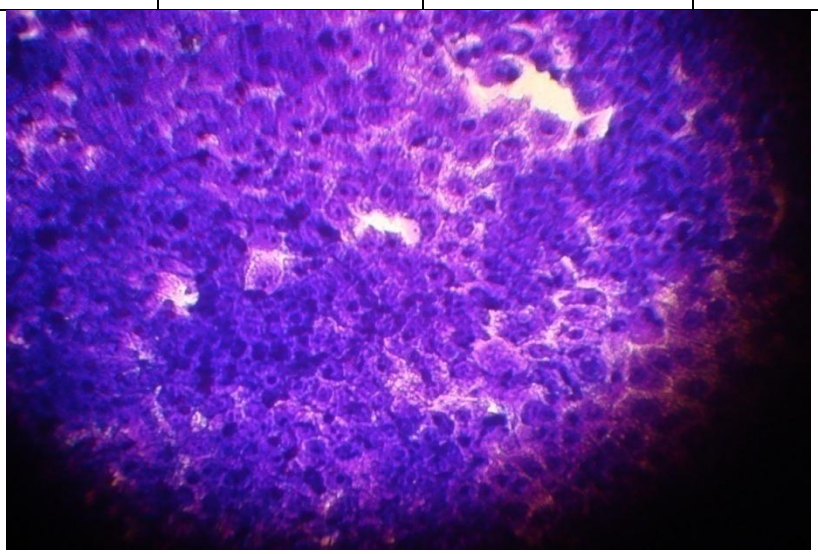
[24]-Sakagami, H.(1995). Effect of tannins on cancer cell lines.Anticancer Res. 15:2121-2128.

[25]Hanausek, M.; Ganesh, P.; Walas Zek,; Arntzen, C. J.; Staga, T. J. and Gatterman, J. U.(2001). Avicins, a family triterpenoid saponins from *Acacia victoriae* (Bentham), suppress H-ras mutations and

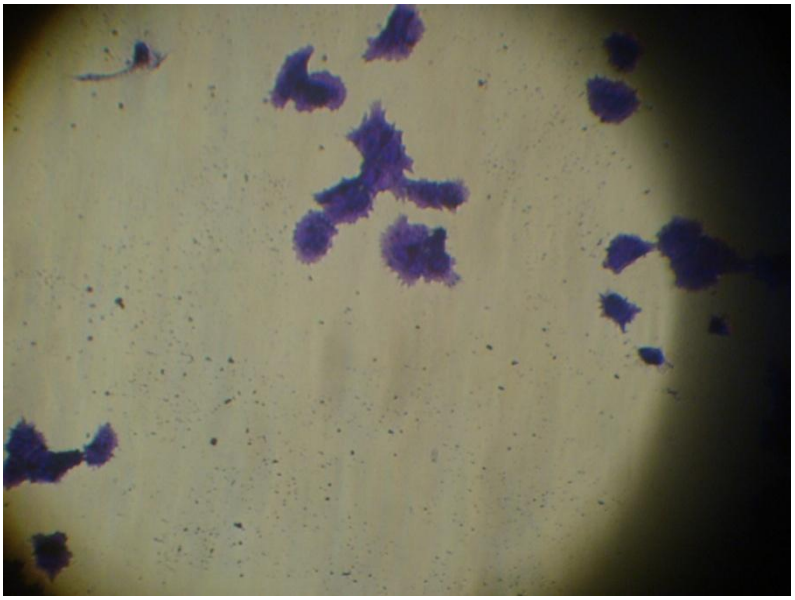
aneuploidy in a murine skin carcinogenesis model, pro. Nat. Acdd. Sc. USA, 98:11557-11562.
[26]Cogo, E. and Kevinlai, N. D.(2003). Should ginseng be considered for cancer prevention Z. compl. And Alter. Med. 80:153-155.
[27]Jacob, R.A. (1995). The integrated antioxidant system. Nut. Res., 15:755-766.

جدول (1): تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات المعدونس ولفترات التعرض الثلاث 72,48,24 ساعة للخط الخلوي السرطاني HeLa.

التركيز مكغم/مل	نسبة التثبيط ± الخطأ القياسي		
	ساعة24	ساعة48	ساعة72
6000	12.94 ± 73.84	3.80 ± 79.93	6.94 ± 82.353
8000	7.04 ± 74.394	4.66 ± 80.968	11.39 ± 83.045
10000	5.81 ± 75.225	2.03 ± 82.006	8.73 ± 84.083
12000	16.82 ± 75.778	5.61 ± 82.698	6.00 ± 85.121
14000	4.55 ± 77.508	7.99 ± 84.429	5.88 ± 87.889
16000	8.84 ± 79.238	3.00 ± 86.505	4.06 ± 88.581



(أ):الخط الخلوي السرطاني HeLa الذي يمثل السيطرة وهو يوضح خلايا الخط الكثيفة والتي تكون بشكل طبقة واحدة (×100).



(ب):الخط الخلوي السرطاني HeLa المعامل بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات المعدنوس عند التركيز 16000مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة , يوضح الفراغات بين الخلايا وقلة عددها (×100).

شكل(1):يوضح المقارنة بين خلايا الخط الخلوي السرطاني HeLa غير المعاملة بالمستخلص والخلايا المعاملة بالمستخلص عند التركيز 16000 مكغم/مل ولفترة تعرض 72 ساعة (×100 , violet Crystal).