تاثير عصير نبات الجرجير (*Eruca sativa*) في معامل الانقسام وتكون النوى 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 تأثير عصير أوراق الجرجير *Eruca sativa* في معامل انقسام الخلايا لنقي عظم الفخذ في الفئران البيض وكذلك درس مؤشر تكوين النوى الصغيرة عند تجريع الحيوانات ٠.١ و ٠.٢٥ و ٠.٥ مللتر والتأثير المضاد للاضطرابات التي يحدثها تجريع الحيوانات بالعقار Cyclophosphamide (Cp) (٥٠ ملغم / كغم من وزن جسم الحيوان) ، وكذلك التداخلات بين العقار والعصير . أسفرت النتائج عن ان عصير الجرجير لا يؤثر في معامل انقسام خلايا نقي العظم ، ولا يساعد في تكوين النوى الصغيرة . اما تجريع الحيوانات بالعقار Cp فقد ادى الى خفض قيم معامل الانقسام الى حوالي ٣٢ %من القيم الطبيعة واستطاعت الخلايا العودة الى الانقسام والارتفا بقيم المعامل ولكنها وحتى بعد مرور ٦ ايام لا زالت القيم واطئة مقارنة بالحالة الطبيعية (السيطرة السالبة) . أثرت عملية تجريع الحيوانات بالعصير قبل المطفر الى استعادة ٨٦ % من قيم المعامل بعد ٦ ايام ، في حين كان تجريع الحيوانات بالعصير بعد المطفر اقل كفاءة واستعادت الأنسجة حوالي ٥٥ % من معامل انقسام خلاياها الطبيعي ، اما إعطاء العصير مع المطفر فقد ادى الى استعادة قيم المعامل بنسبة ٨٢ % من الحالة الطبيعية . لم يؤثر اعطاء الحيوانات عصير الجرجير على زيادة عدد النوى الصغيرة خلافا للـ Cp الذي ادى الى زيادتها الى حوالي ٩ أضعاف ، وقد قلت النوى الصغيرة الى حوالي ٧ أضعاف بعد مرور ٦ ايام نتيجة عمليات الإصلاح الطبيعية . لم يستطع العصير عند استعماله قبل المطفر J/Cp او بعد المطفر Cp/J او مع المطفر J+Cp من خفض عدد النوى الصغيرة الى مستوى الحالة الطبيعية وان كانت قيم الانخفاض ذات فروق معنوية على مستوى احتمال ($P < 0.01$) عند المقارنة بالسيطرة الموجبة

المقدمة

مما لاشك فيه ان التلوث البيئي دائما يعود بالآثار السلبية على صحة الانسان والحيوان ، وقد انصب اهتمام الباحثين بشكل كبير على معالجة التلوث البيئي بإيجاد السبل الكفيلة في العلاج والوقاية من الآثار السلبية البيئية التي تشكل حوالي ٨٥ – ٩٠ % من مسببات السرطان وذلك لان معظم المواد المصنعة هي مواد محبة للالكترونات Electrophiles وتهاجم الجزيئات الحيوية ذات الطبيعة المختزلة والغنية بالالكترونات وفي مقدمتها المواد الوراثية وبشكل خاص DNA (Felkner واخرون ، ١٩٨١) وتشير الدراسات الى ان اكثر من ٨٥ % من المواد المسرطنة هي مواد مطفرة (Kier واخرون ، ١٩٨٦) ، لذلك نشطت الدراسات لإيجاد الطرق والوسائل للكشف السريع عن هذه المواد .

وللنباتات دور في التقليل من ضرر المواد التي تهاجم المواد الوراثية (Kotake – Nara واخرون ، ٢٠٠١) ، ولو ان بعض المواد الغذائية تحوي على المسرطنات والتي أشارت الدراسات الى انها يمكن ان تكون مسئولة عن ٣٠ % من السرطانات التي تصيب الانسان (Donaldson ، ٢٠٠٤) ، ولذلك انصب الاهتمام على إيجاد الوسائل الملائمة لتشخيص المركبات ومعرفة فعالياتها لان البعض منها له القابلية على إحداث الطفرات الوراثية والتي تعد المرحلة الاولى لعملية التسرطن ، ولذلك يتم الكشف والتقصي عن المسرطنات باستعمال الفحوص قصيرة الامد (Grobstein ، ١٩٨٢) .وتعد الفحوص قصيرة الامد كل على حدة قاصرة عن إيجاد الفعالية الحقيقية لذلك توصي الجهات المختصة باستعمال اكثر من نظام للكشف عن قابلية المواد على التطفير والتسرطن كونهما يشتركان في إنهما يؤثران في المادة الوراثية وكذلك الحال في الكشف عن المواد المضادة للتطفير والتسرطن (WHO ، ١٩٩٣) .

مستل من رسالة ماجستير للباحثة الاولى

تاريخ تسلم البحث ٢٠٠٧/١١/٢٩ وقبوله ٢٠٠٨/١/١٦

ومن الأغذية المرشحة للعمل ضد التطفير والتسرطن هي أفراد العائلة الصليبية Cruciferae (Brassicaeae) التي تعمل عدة مركبات فيها كمثبطات تطفير مباشرة Desmutagens واخرى تعمل كمثبطات تطفير حيوية Bioantimutagens (Kohlmeier واخرون ، ١٩٩٥ و Bronzetti ، ١٩٩٧) ، كما ان هناك بعض المواد تعمل بالاليتين . ففي الحالة الاولى تقوم بعض المركبات الطبيعية بتثبيط التنشيط الايضي للمطفرات التي تحتاجها لتظهر فعاليتها التطفيرية ومنها الفلافونات Flavonoides (Kuroda واخرون ، ٢٠٠١) وفيتامين C , E ومركبات الاندول (Hertog واخرون ، ١٩٩٧) ، وكذلك تعمل كمواد كاسحة او صائدة للمسرطنات النهائية وتمنع وصولها الى الأهداف ، والمسرطنات النهائية تكون مواد محبة للالكترونات لذلك تقوم المثبطات بتحويلها الى مواد غير مؤذية بتكوين معقدات معها وبذا تعرقل دخولها الى داخل الخلايا (Renner ، ١٩٨٦ وFahey Talalay ، ٢٠٠١) . كما ان هناك مركبات اخرى تقوم بتحفيز الجهاز المناعي . وتعمل المواد المثبطة الحيوية على حماية المواد الوراثية وذلك بزيادة كفاءة أنظمة إصلاح المواد الوراثية ، وزيادة دقة وكفاءة عملية تضاعف DNA اضافة الى عملها كعوامل كابتة او غالقة للمطفرات (Kohlmeier واخرون ، ١٩٩٥ و Bronzetti ، ١٩٩٧) .

مواد البحث وطرائقه

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

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

عقارCyclophosphamide (Cp) (Germany / Asta) : 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 : حضر بأس هيدروجيني ٧.٢ (Hudson و Hay ١٩٨٠) واستخدم 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) ، حضر آنيا وبرد في الثلاجة (٤ ° م) واستعمل في تثبيت خلايا نقي العظم (Femur 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 ٣جر من العصير النباتي ٠.١ ، ٠.٢٥ ، ٠.٥ مللتر (بناءا على تجارب اولية) 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 (Agrawal و Kumar ، ١٩٩٨) .

شرحت الحيوانات بعد ذلك لتحضير الشرائح الزجاجية لنقي عظام الفخذ .

التداخلات بين العصير النباتي والمطفر :

المعاملة الاولى : تجريع الحيوانات بالعصير النباتي قبل المطفر (J/Cp) ، استعملت ١٥ فارة حيث تم تجريع ٩ فئران منها بالعصير النباتي (٠.٢٥ مللتر باعتبارها الجرعة الملائمة) 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) ، بعد مرور ٦ ساعات على إعطاء الجرعة الثانية للعصير النباتي (Agrawal و Kumar ، ١٩٩٨) ، 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 وضمت ٣ فئران تم تجريعها بالمطفر وشرحت بعد مرور ٢٤ ساعة من التجريع .

المعاملة الثانية : تجريع الحيوانات بالمطفر قبل العصير (Cp/J) ، خصص للتجربة ٢٤ فارة ، تم تجريع ٩ منها بالمطفر بتركيز ٥٠ ملغم / كغم وزن الجسم ثم قسمت الى ٣ مجاميع :

المجموعة الاولى : ٣ فئران تم تجريعها بالمطفر ثم جرعت بالعصير النباتي بعد مرور ٦ ساعات من التجريع بالمطفر(Agrawal و Kumar ، ١٩٩٨) ، 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 اخرى تم تجريعها بالمطفر Cp وتم تشريح ٣ فئران بعد مرور يومين وثلاث بعد ٤ ايام وثلاث بعد ٦ ايام .

كما موضح في المخطط التالي :

المعاملة الثالثة : معاملة الحيوانات بالعصير النباتي مع المطفر (J+Cp) ، تم مزج المطفر مع العصير النباتي لمدة ٣ ساعات وبدرجة حرارة ٣٧ْم (الربيعي ، ٢٠٠٠) ، ثم جرعت الحيوانات بالنماذج الناتجة لمدة ٦ ايام وشرحت بعدها الحيوانات .

السيطرة السالبة خصص لها ٣ فئران ، والسيطرة الموجبة خصص لها ٣ فئران جرعت بالمطفر وشرحت بعد مرور ٢٤ ساعة .

تحـ ـير شرائح الكروموسومات من الخلايا الجسمية لنقي العظم تمت بإتبا طريقة Allen واخرون (١٩٧٧) مع بعض التحويرات وكالاتي :

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 ، ١٩٨٦) وحسب معامل الانقسام :

معامل الانقسام = [عدد الخلايا المنقسمة / العدد الكلي للخلايا] × ١٠٠

فحص النواة الصغيرة : لغرض اجراء الفحص اعتمدت طريقة Schmid (١٩٧٦) مع التحويرات ووفق الاتي :

تم الحصول على خلايا نقي العظم باستخدام محقنة طبية نبيذة معقمة باستعمال ١ مللتر من المصل البشري المثبط بالحرارة بدرجة ٥٦ْ م لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم فصلت الخلايا بالطرد المركزي (٣٠٠٠ دورة / دقيقة) لمدة ٥ دقائق ، واستعمل الراسب في تحضير الشرائح الزجاجية وصبغت بصبغة كمزا

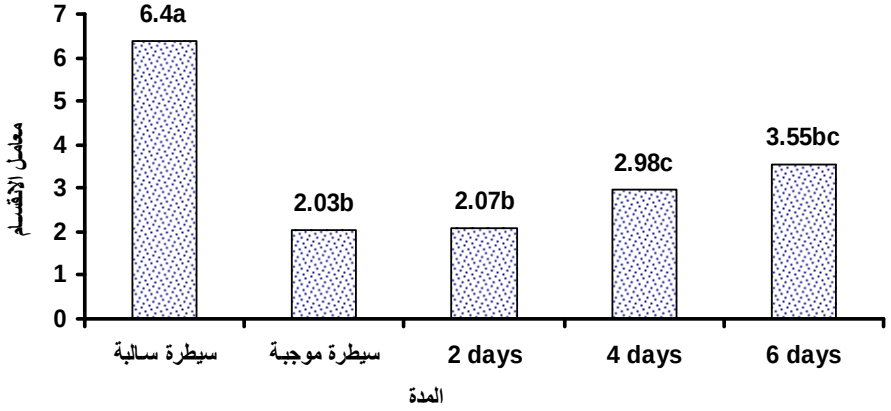
. فحصت الشرائح باستخدام العدسة الزيتية وتم حساب النسبة المئوية للنوى الصغيرة المتكونة في ٥٠٠ خلية من سوابق خلايا الدم الحمر Polychromatic erythrocytes .

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

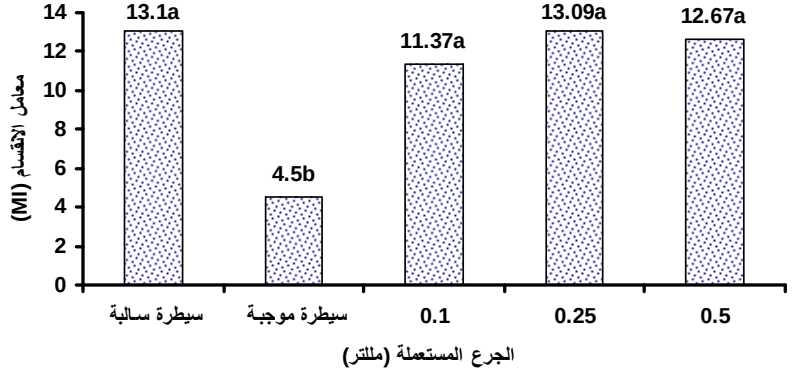
يعد حساب معامل الانقسام احد المؤشرات او المقاييس التي توضح اضطراب الفعاليات الحيوية للخلايا عند وجود المواد المطفرة او المسرطنة . ويتأثر معامل الانقسام سلبا بتأثير المواد الاخيرة ، لذلك فعقار Cp يستعمل في علاج بعض السرطانات لانه يوقف انقسام الخلايا Cytostatic drug اذ يتداخل مع آليات الانقسام الخلوي (Belisario واخرون ، ١٩٨٥) . ويوضح الشكل (١) تاثير المطفر Cp على معامل انقسام خلايا نقي العظم للحيوانات المجرعة بالمطفر بجرعة ٥٠ ملغم / كغم من وزن جسم الحيوان.

ويلاحظ من الشكل ان اعطاء الحيوانات العقار ثم تشريحها في اليوم الثاني قد ادى الى انخفاض معامل الانقسام الى ٢.٠٣ مقارنة بالحالة الطبيعية لحيوانات التجربة (٦.٤) ، ولكن الخلايا وبعد مرور مدة من الزمن بدأت باستعادة قابليتها على الانقسام نتيجة لعمليات الاصلاح التي يقوم بها جسم الحيوان والملاحظ ان في معظم الفحوص قصيرة الامد والتي تتم خارج الانظمة الحية تكون المادة عادة بتماس مباشر ومستمر مع الخلايا وأنزيماتها المحورة ومادتها النووية ولكن هذا لا يمثل الوضع عند استعمال الحيوانات (*In vivo*) ففي داخل الجسم يمكن ات تحصل إزالة لسمية المواد او حصول حالة عدم امتصاص المادة وبالتالي حماية الجسم من المسرطنات وهذه الظاهرة مسجلة لعدد كبير من الأنظمة الحية (Ashby و Styles ، ١٩٨٥) .



الشكل (١) : تاثير المطفر (٥٠ ملغم / كغم وزن الجسم) في معامل انقسام خلايا نقي عظام فخذ الفئران

وتأثيرعصير الجرجير بجر مختلفة موضح في الشكل (٢) .



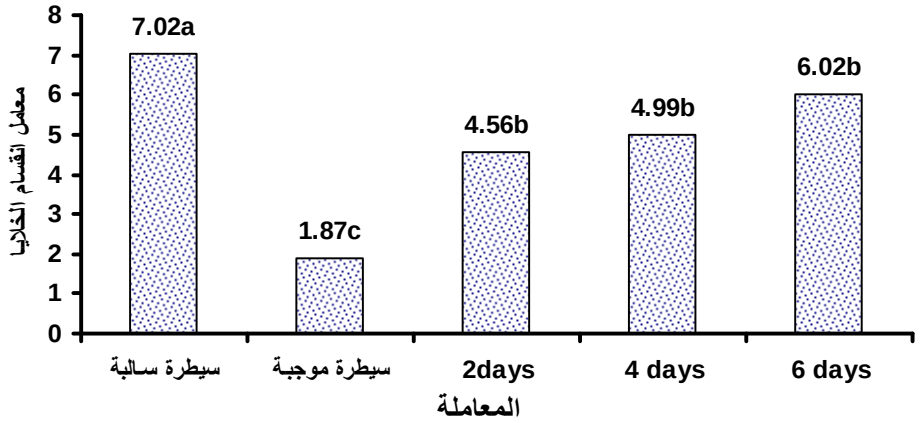
الشكل (٢) : تاثير كميات مختلفة من عصير الجرجير على معامل انقسام خلايا نقي العظم

ويلاحظ ان الكميات

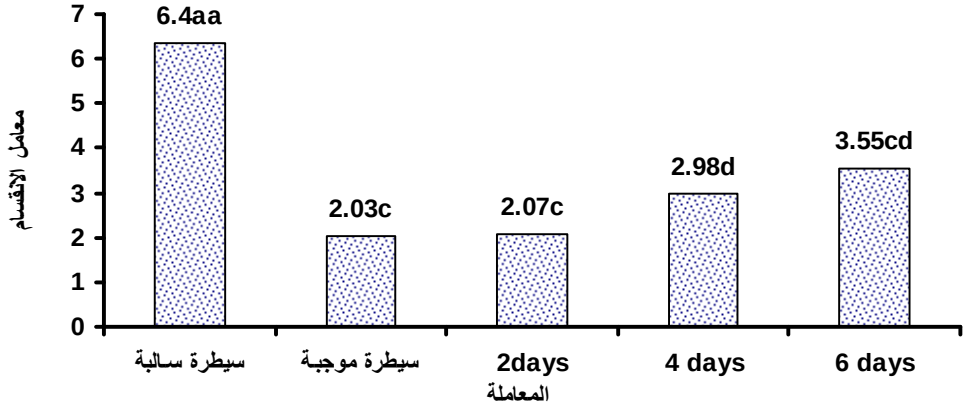
المستعملة لم تؤثر في معامل الانقسام اذ لم تكن هناك فروق معنوية عن السيطرة السالبة ولكن كانت الفروق معنوية عن السيطرة الموجبة (أي استعمال العقار) ، اذ انخفض المعامل الى ٤.٥ مقارنة بالسيطرة السالبة (١٣.١) .

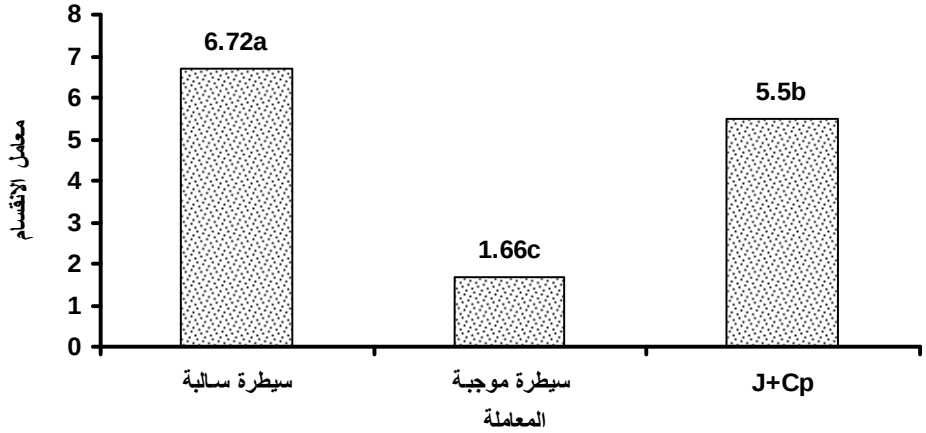
اما تاثير المعاملات المختلفة بعصير الجرجير مع المطفر سواء كانت قبل استعمال المطفر (J/Cp) او بعد استعمال المطفر (Cp/J) او مع المطفر (J+Cp) وعلى مدى ٦ ايام فموضحة في الأشكال ٣ و ٤ و ٥ على التوالي .

ويظهر من الاشكال ان تجريع الحيوانات بالعصير النباتي قبل المطفر (J/Cp) يكون افضل في التقليل من التدهور الحاصل لمعامل الانقسام ، اذ ساعدت المعاملة بالعصير في استعادة الخلايا قابليتها على الانقسام بنسبة حوالي ٨٦ % (بعد ٦ ايام) في حين كانت كفاءة العصير في مساعدة الخلايا لاستعادة معامل انقسامها بعد معاملتها بالمطفر تصل الى ٥٥ % من الحالة الطبيعية (بعد ٦ ايام) وان كانت قد ارتفعت به عن المعاملة الموجبة (أي استعمال Cp لوحده) . في حين حافظ العصير النباتي على معامل انقسام تصل قيمته الى ٨٢ % من الحالة الطبيعية عند استعماله سوية مع المطفر (الشكل ٥).



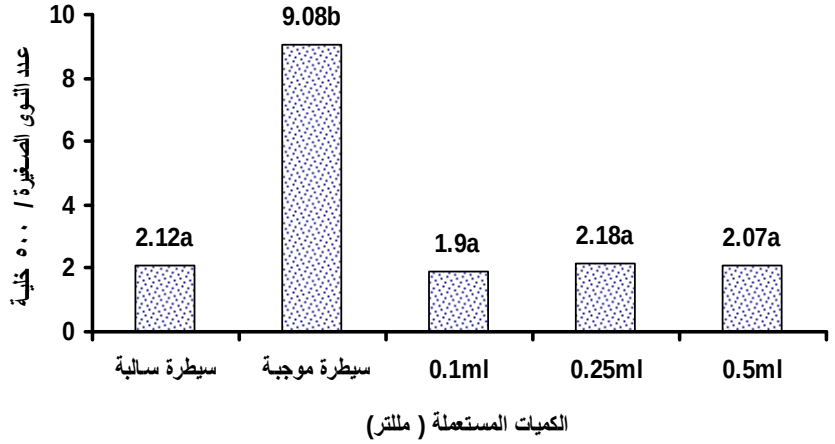
الشكل (٣) : تاثير استعمال الجرجير قبل التعريض للمطفر (J/Cp) فى معامل انقسام الخلايا





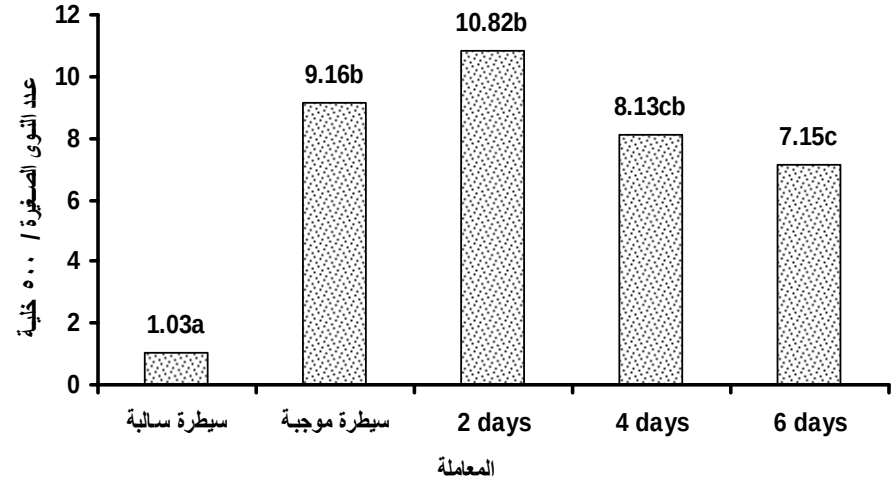
الشكل (٥) : تاثير استعمال الجرجير مع المطفر (J+Cp) في معامل انقسام الخلايا

ويتناول الجزء الثاني من الدراسة تاثير عصير الجرجير في مؤشر تكوين النوى الصغيرة . ويوضح الشكل (٦) تاثير الكميات المتدرجة من العصير عند تجريعها الحيوانات على أعداد النوى الصغيرة .



الشكل (٦) : تاثيرعصير الجرجير في عدد النوى الصغيرة

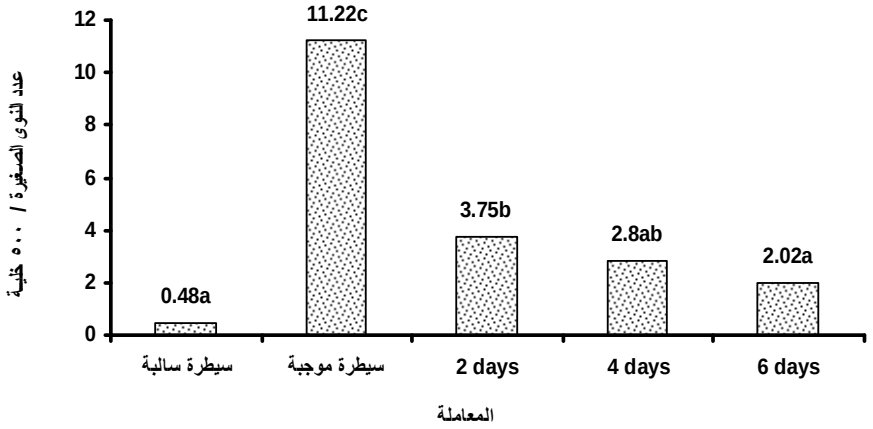
ويعد اختبار النوى الصغيرة من المؤشرات الحساسة والكفوءة والذي يعادل مؤشر تشوه الكروموسومات Chromosomal aberrations في تقيم التلف الحاصل لجزيئات DNA (Ghaskadbi واخرون ، ١٩٩٢) . ويلاحظ من الشكل ان الكميات المختلفة أعطت نتائج لا تختلف معنويا عن الحالة الطبيعية (السيطرة السالبة) ولكنها شكلت فرقا معنويا عن السيطرة الموجبة على مستوى احتمال ($P < 0.01$) . اما الشكل (٧) فيوضح تأثير المعاملة بالمطفر Cp في عدد الانوية الصغيرة وعلى مدى ٦ ايام .



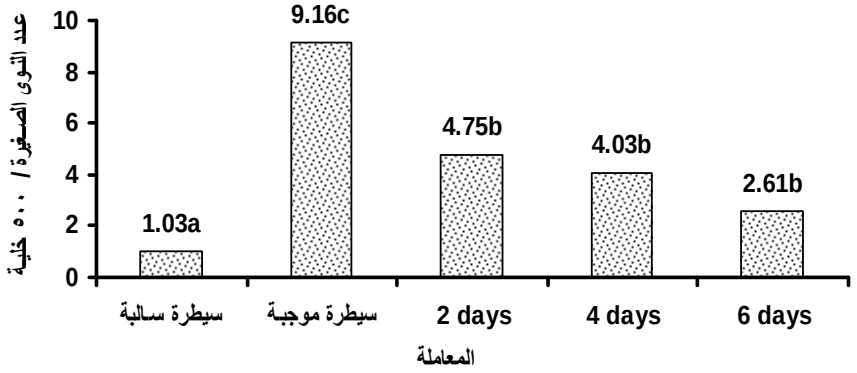
الشكل (٧) : تاثير المطفر Cp في عدد النوى الصغيرة لمدد مختلفة

والملاحظ ان المطفر لا يزال يملك تأثيرا كبيرا في حث النوى الصغيرة حتى بعد مرور ٦ ايام وبشكل معنوي مقارنة بالحالة الطبيعية (السيطرة السالبة) .

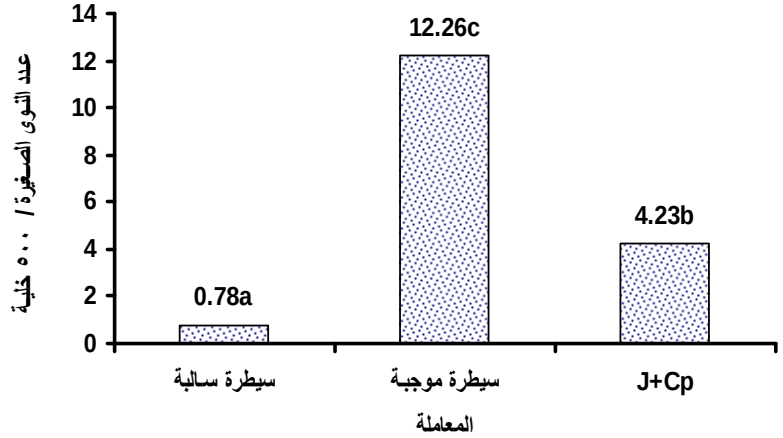
وتوضح الأشكال ٨ و ٩ و ١٠ تأثير التداخلات بين عصير النبات والمطفر ويوضح الشكل (٨) ان اعداد النوى الصغيرة بعد يومين و٤ و٦ ايام قد انخفضت بشكل معنوي على مستوى ($P < 0.01$) مقارنة بالسيطرة الموجبة وهي استعمال Cp (١١.٢٢) الذي يؤثر بشكل كبير في المواد الوراثية (Barton واخرون ، ٢٠٠٣) وتميزت المعاملة قبل ٦ ايام بكونها الأفضل .



الشكل (٨) : تاثير المعاملة بالجرجير قبل استعمال المطفر (J/ Cp) في عدد النوى الصغيرة



الشكل (٩) : تاثير استعمال الجرجير بعد المطفر (Cp/J) في عدد النوى الصغيرة



الشكل (١٠) : تاثير استعمال الجرجير مع المطفر (J+Cp) في عدد النوى الصغيرة

ان الحماية التي يوفرها عصير الجرجير تجاه تأثير المطفر ربما يعود الى صفة مضادة الأكسدة للمركبات الفعالة ومنها Indole – 3 – carbinol (I3 C) وغيرها التي تلعب دورا مهما في حماية الدهون المخزونة في الخلية والأحماض الدهنية والدهون الموجودة بشكل دهون فوسفاتية في

الغشاء السايتوبلازمي للخلايا فضلا عن حماية المادة الوراثية DNA والبروتينات من تاثير فعل الجذور الحرة الفعالة الناتجة من تايض المواد المطفرة (Castenmiller واخرون ، ١٩٩٩) ، وتفوقت المعاملة قبل ٦ ايام التي حققت أعلى نسبة حماية والذي يشير الى ان المركبات الموجودة بشكل خليط تمتلك قدرة على اختزال تلف DNA والذي يعزى الى تضافر الفعل التآزري لمركبات العصير النباتي ، اذ ان الجرجير يحوي على مركبات Isothiocyanates (ITCs) التي لها دور كبير في حماية الخلايا من سموم المواد المطفرة التي يكون تراكمها داخل الخلايا معتمدا ومرتبطا مع الكلوتاثايون Glutathione (GSH) والذي ينسحب ايجابيا على مستوى Glutathione – S – transferase (GST) داخل الخلايا (Zhang ، ٢٠٠١) ، ودرجة تراكم ITCs داخل الخلايا يكون مرتبطا بقابليتها على تحفيز إنزيمات الطور الثاني Phase II enzymes المتمثل بانزيمات إزالة السمية ومنها GST و Quinone reductase (Zhang و Talaley ، ١٩٩٨) .

وهذا يعني ان المركبات تحث عمليات الاصلاح أكثر من عمليات الاصلاح الذاتية في الخلية مقارنة بالشكل (١) ، فضلا عن إمكانية تنافس المركبات الفعالة مع المطفر على مواقع محددة من DNA التي تكون مستهدفة من قبل المطفر وبذلك تمنع تكون DNA adducts وهذه الصفة تظهرها العديد من المركبات مثل الكلايكوسيدات والفلافونات والكاروتينات وغيرها (Lamson و Brignall ، ١٩٩٩) .

وقد لوحظ عند تناول نباتات العائلة الصليبية من قبل متطوعين بعد وجبة من اللحوم المحمرة زيادة تركيز ITCs المرتبطة بالمطفر [4 . 5 – 2 – amino – 1 – methyl – 6 - phenylimidazo b] pyridine (Ph 1 p) في الإدرار بعد مرور ٤٨ ساعة من الوجبة حيث تتداخل ITCs مع ايض المطفر (Ph 1 p) وتسر في إخراجه في الإدرار (Walters واخرون ، ٢٠٠٤) . وبذا يتضح ان عصير النبات الذي يكون بمثابة خليط من المواد يمكن ان يعمل بعضها مثبطات تطفير مباشرة (Desmutagens) ، في حين يعمل البعض الأخر كمضادات تطفير داخل الخلايا تساعد في اصلاح ما تؤدي اليه المواد المؤذية للخلايا .

EFFECT OF ROCKET JUICE (*ERUCA SATIVA*) ON MITOTIC INDEX AND FORMATION OF MICRONUCLEI IN FEMUR BONE MARROW CELLS OF 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 effect of orally administered rocket leafs juice on the mitotic index (MI) and micronuclei (Mn) formation was studied in white mice bone marrow . The effect of juice to retarded the abnormalities induced by cyclophosphamide (Cp) administered orally was studied as well .

Results revealed that juice (0.1 , 0.25 , 0.5) ml had no effect on both MI and Mn , while using Cp at 50 mg / Kg body weight resulted in lowering the MI to 32 % of the natural values . Natural repairing process restored some of the MI values but still low compared to natural state (Negative control) . Oral administration of juice before treating with mutagen (J/Cp) was able to restore 86 % of the normal value , while administering the juice after treating the animals with mutagen (Cp/J) restored 55 % of the control value . The administration of juice with mutagen (J+Cp) restored 82 % of the natural value . Treatment of animals with Cp raised the Mn formation nine times that of its natural frequency . The frequency , however , reduced to only 7 times after 6 days due to natural repair processes . Using the juice before or after treatment

with mutagen (J/Cp) , (Cp/J) or (J+Cp) were unable to reduce the Mn count to the natural level , although the reduction was statistically significant at ($P < 0.01$) as compared to the positive control .

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 .

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 .

Barton, T. A. Wyrobek; F. Hill; B. Robaire and B. Hales(2003). Numerical Chromosomal Abnormalities in Rat Epididymal Spermatozoa Following Chronic Cyclophosphamide Exposure.Biol.Rep.69:1150–1157 .

Ashby, J and J. Styles (1980). Carcinogenic synergism and its reflection *in vitro*. Br. Med. Bull . 36 : 63 – 70 .

Belisario, A.; N. Panza, and G. Pacilia (1985). Effect of beta-carotene on mutagenic activity of some antineoplastics . Acta Vitaminol. Enzymol . 7 : 75 – 78 .

Bronzetti, G. (1997). The role of antimutagenesis and anticarcinogenesis.J.Environ.Pathol. Toxicol.Oncol.16:259- 262 .

Castenmiller, J.; S. Lauridsen; O. Dragsted ; J. Linssen and C. West (1999) . β – carotene dose not change markers of enzymatic and non–enzymatic antioxidant activity in human blood . J. Nutr . 129 : 2162 – 2169 .

Donaldson , M . (2004) . Nutrition and cancer for an anticancer diet . Nutr . J . 105 : 169 – 175 .

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

Felkner, I.; A. Laumbach and M. Harter (1981). Development of a *B. subtilis* System to Screen Carcinogens , Mutagens : DNA Damaging Mutation Assay . *In* " Microbial Testers : Probing Carcinogenesis " I . Felkner (Ed.) . Marcel Dekker Inc. : New York , Basel

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.

Grobstein, C. (1982). Diet, Nutrition, and Cancer. Nutrition Academy Press: Washington .

Hertog, M.; G. Poppel and D. Verheovea (1997). Potentially Anticarcinogenic Secondary Metabolites from Fruits and Vegetables. *In* " Phytochemistry of Fruits and Vegetables ". F. Tomas – Barberan (Ed.) . Clarendon Press : Oxford .

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

Kier, L.; D. Brusick; A. Auletta; E. Halle; M. Brown; V. Simmon; V. Dunkel; J. Mecann; K. Mortelmans; M. Prival; T. Rao and V. Ray (1986). The *Salmonella typhimurium*/mammalian microsomal assay: A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gen–Tox Program . Mut. Res. 168 : 240 -269 .

Kohlmeier, L.; N. Simonsen; and K. Mottus (1995). Environmental Health Issues. Environ. Health Perspect. 103 : 1 – 11 .

Kotake – Nara , E . ; M. Kushiro ; H. Zhang ; T. Sugawara ; K. Miyashita and A. Nagao (2001). Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. J. Nutr. 131:3303 – 3306 .

Kuroda, Y.; N. Shima; K. Yazawa and K. Kaji (2001). Desmutagenic and bioantimutagenic activity of docosahexaenic acid and eicosapentaenoic acid in cultured Chinese hamster V79 cells . Mut . Res . 497 : 123 – 130 .

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

Lamson, D. and M. Brignal (1999). Antioxidants in cancer therapy, their actions and interaction with oncologic therapies. Altern. Med. Res . 4 : 304 – 329 .

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

Renner, H. (1986). Bioassays with an Antioxidant and beta-carotene as Antimutagenic Factors. *In* " Genetic Toxicology of the Diet ". I. Knudsen (Ed.), Alnar. Liss. Inc. New York .

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.

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

Talalay, P. and W. Fahey (2001). Phytochemicals from cruciferous plants protected against cancer by modulating carcinogen metabolism . J . Nutr . 131 : 3027 – 3033 .

Walters, D.; P. Young; C. Agus; M. Knize, A . Boobis; N. Gooderham and B. Lake (2004). Cruciferous vegetable consumption alters the metabolism of the dietary carcinogen 2 – amino – 1 – methyl - 6 –phenylimidazo [4, 5 – b] pyridine (Ph 1p) in humans. Carcinogenesis 25 : 1659 – 1969.

WHO. (1993). Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines . Regional Office for the Western Pacific . Manila .

Zhang, Y. (2001). Molecular mechanism of rapid cellular accumulation of anticarcinogenic isothiocyanates . Carcinogenesis 22 : 425 – 431 .

Zhang, Y. and P. Talalay (1998). Mechanisms of differential potencies of isothiocyanates as inducers of anticarcinogenic phase 2 –enzymes. Cancer Res. 58 : 4632 – 4639 .