تأثير عصير الجزر (*Daucus carota*) في معامل انقسام الخلايا وتكوين النوى الصغيرة في خلايا نقي عظم الفخذ 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 .

لخلاصة

درس تأثير عصير الجزر بجرع مختلفة على معامل انقسام الخلايا وتكوين الانوية الصغيرة في خلايا نخاع عظام فخذ الفئران البيض . وكذلك درس التأثير المضاد تجاه المركب Cyclophosphamide (Cp) بمعاملات مختلفة . أظهرت النتائج عدم تأثر معامل الانقسام وتكوين النوى الصغيرة في الخلايا عند استعمال جرع مختلفة من العصير (١.٠ ، ٠.٢٥ ، ٠.٥) مللتر لتجريع الحيوانات لمدة ٦ أيام متتالية ، بينما اثر العقار Cp بتركيز ٥٠ ملغم / كغم من وزن جسم الحيوان على معامل الانقسام اذ انخفض المعامل عن الحالة الطبيعية (٦.٣) الى ١.٩٧ بعد مرور ٢ ساعة ، وأدى استعمال Cp الى زيادة عدد النوى الصغيرة الى ١٣.٠٦ مقارنة بالسيطرة السالبة (١.٠) . اما التداخلات المختلفة بين العصير والمطفر (العصير قبل المطفر Ca/Cp) والعصير بعد المطفر Cp/Ca ، والعصير مع المطفر (Ca+Cp) فكانت مختلفة في تأثيراتها ، ففي العموم ساعدت في استعادة الخلايا معاملات انقسامها خاصة بعد مرور مدة من الزمن وكانت أفضل النتائج بعد مرور ٦ ايام . اما تكون النوى الصغيرة فبقى مرتفعا في حالة استعمال المطفر أولا لمعاملة الحيوانات وكذلك الحال في المعاملة التي استعمل فيها المطفر مع العصير .

المقدمة

تعج البيئة بالمواد الضارة بصحة الانسان خاصة بعد الثورة الصناعية واكتشاف العديد من المركبات الكيماوية التي تستعمل لإغراض مختلفة ومنها استعمالها كأدوية او في حفظ الأغذية اوغيرها من الأغراض . واغلب هذه المواد سامة وراثيا Genotoxic سواء بالتعرض المباشر او غير المباشر وتتفاعل مع جزيئات DNA المختزلة جدا الغنية بالالكترونات (Kohlmeier واخرون ، ١٩٩٥) . وفي مواجهة هذه المشاكل المتفاقمة برزت الفحوص قصيرة الأمد للكشف عن المواد المطفرة والمسرطنة سواء خارج الجسم او داخله (Grobstein ، ١٩٨٢) ، وكذلك للكشف عن المواد المضادة لها . ومن هذه الفحوص قياس معامل الانقسام Mitotic Index (MI) وهو دليل يتم حسابه كنسبة بين عدد الخلايا المنقسمة الى عدد الخلايا الكلي (Shubber و Al-Allak ، ١٩٨٦) الذي يتأثر سلبا بالمواد المطفرة والمسرطنة التي تؤدي الى تثبيط الانقسام الخلوي .

ومن الفحوص المهمة في هذا المجال فحص تكون النوى الصغيرة Micronuclei (Mn) وهي كتل متجمعة من الكروماتين تظهر في السايتوبلازم بعد تكون الغشاء النووي في نهاية الانقسام الخيطي ، وتشبه النواة الأصلية من حيث الشكل الخارجي والتفاعل مع الصبغات ولكنها اصغر من النواة الاصلية وتصل إلى حوالي ثلث قطرها (Tawn و Holdsworth ، ١٩٩٢) ، وتنشأ نتيجة حصول كسور في الكروموسوم او فقدانه نتيجة لتخلف الكروموسوم عديم الجسم المركزي Acentric chromosome وعدم انضمامه مع الهيئة الكروموسومية للخلايا البنوية الناتجة بعد الانقسام الخلوي وتظهر بعد الطور الانفصالي Anaphase لذلك فان تكونها يعكس مدى التلف الذي تعرضت له المواد الوراثية نتيجة لتعرض الخلايا للمواد التي تؤدي الى كسر الكروموسومات Clastogenic agents (Heddle و Salamon ، ١٩٨١ و Tawn و Holdsworth ، ١٩٩٢) .

ومن جهة ثانية فان الغذاء غير المتوازن يمكن ان يؤدي الى حث التطفير والتسرطن بنسبة ٣٠ ـ ٤٠ % (Knudsen ، ١٩٨٦) . ولكن الغذاء يحوي ايضا على مضادات التطفير والتسرطن خاصة النباتات وقد وجدت علاقة عكسية بين حدوث السرطانات وتناول الاغذية النباتية خاصة الخضر

مستل من رسالة ماجستير للباحثة الأولى
تاريخ تسلم البحث ٢٠٠٧/١١/٢٩ وقبوله ١٦ / ١ / ٢٠٠٨

والفواكه الطازجة التي تساعد في تحفيز مجموعة من آليات الإصلاح في الخلية (Donaldsen ، ٢٠٠). ومن الاغذية الواقية الجزر *Daucus carota* الذي يعود الى العائلة الخيمية Umbelliferae ، ويحوي العديد من المركبات الفعالة والحوامض الدهنية المضادة للتطفير (Evans ، ٢٠٠٢) . وتضمنت الدراسة الحالية محاولة إيجاد تأثير احد العقاقير المستعملة Cyclophosphamide (Cp) على معامل الانقسام MI وتكوين النوى الصغيرة وإمكانية عكسها باستعمال عصير الجزر في الفئران البيض التي تمثل النموذج الدراسي لمثل هذه الأغراض .

مواد البحث وطرائقه

حيوانات التجربة : استخدمت ذكور الفئران السويسرية البيض *Mus musculs* الضرب Balb/C بمعدل عمر بين ٨ – ١٢ أسبوع 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 .

جذور الجزر : استعملت جذور الجزر المشتراة من أسواق بغداد وحضر منها العصير باعتماد طريقة (Lai واخرون ، ١٩٨٠) مع بعض التحوير ، اذ اخذت ١٠٠ غرام من الجذور النظيفة المغسولة بماء الحنفية وهرست هرسا اوليا ، ثم خلط بالخلاط الكهربائي (Blender من شركة China / Moulient) لمدة ٣ دقائق على السرعة المتوسطة (وشمل التحوير عدم إجراء استخلاص المواد بالمذيبات) ، 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 .

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

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

المحاليل المستعملة :

محلول دارئ الفوسفات الفسيولوجي : حضر بأس 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 (° م) ويستعمل في تثبيت خلايا نقي العظم الفخذ (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 ٣ جرع من العصير النباتي (١.٠ و ٠.٢٥و 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 تعمل بأي مادة ، اما السيطرة الموجبة فجرعت بـ ٠.٢٥ مللتر من المطفر Cp (المحلول الخزين) لتكون الجرعة النهائية ٥٠ ملغم / كغم من وزن الجسم وشرحت بعد مرور ٢ ساعة .

شرحت الحيوانات بعد ذلك لتحضير الشرائح الزجاجية لنقي عظام الفخذ .

التداخلات بين العصير النباتي والمطفر :

المعاملة الاولى : تجريع الحيوانات بالعصير النباتي قبل المطفر (Ca/Cp)، استعملت ١٥ فارة حيث تم تجريع ٩ فئران منها بالعصير النباتي (٠.٢٥ مللتر) وقسمت الى ثلاث مجاميع :

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

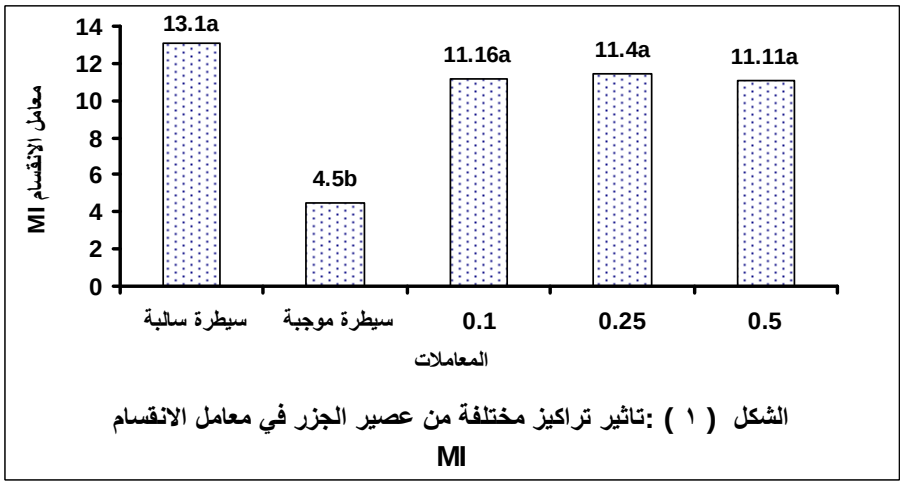
المجموعة الثانية : ضمت ٣ فئران تم تجريعها بالعصير النباتي لمدة ايام ، ثم جرعت بالمطفر بعد مرور٦ ساعات من إعطاء الجرعة الرابعة وشرحت في اليوم الخامس .

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 ٢ ساعة من التجريع .
المعاملة الثانية : تجريع الحيوانات بالمطفر قبل العصير (Cp/Ca) ، خصص للتجربة ٢ 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 واستمر التجريع لمدة يومين متتالية ثم شرحت الحيوانات في اليوم الثالث .
المجموعة الثانية : وضمت ٣ فئران جرعت بالمطفر ثم جرعت بالعصير النباتي بعد مرور ٦ ساعات من التجريع بالمطفر واستمر التجريع لمدة 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 ٢ ساعة .
تجريع الحيوانات بالمطفر : خصصت ٩ فئران اخرى تم تجريعها بالمطفر Cp وتم تشريح ٣ فئران بعد مرور يومين وثلاث بعد ايام وثلاث بعد ٦ ايام .
المعاملة الثالثة : معاملة الحيوانات بالعصير النباتي مع المطفر (Ca+Cp) ، تم مزج المطفر مع العصير النباتي لمدة ٣ ساعات وبدرجة حرارة ٣٧ ْم (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 (٥٠ ملغم / كغم وزن الجسم) وشرحت بعد مرور ٢ ساعة .
تحضير شرائح الكروموسومات من الخلايا الجسمية لنقي العظم : تمت بإتباع 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 (٣ شرائح لكل فخذ) . 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
فحـ 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 ٥٦ ْم لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم فصلت الخلايا بالطرد المركزي (١٠٠٠ دورة / دقيقة) لمدة ٥ دقائق ، واستعمل الراسب في تحضير الشرائح الزجاجية (٣ شرائح لكل فخذ) 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 1996) واختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود (Duncan ، ١٩٥٥) .

النتائج والمناقشة

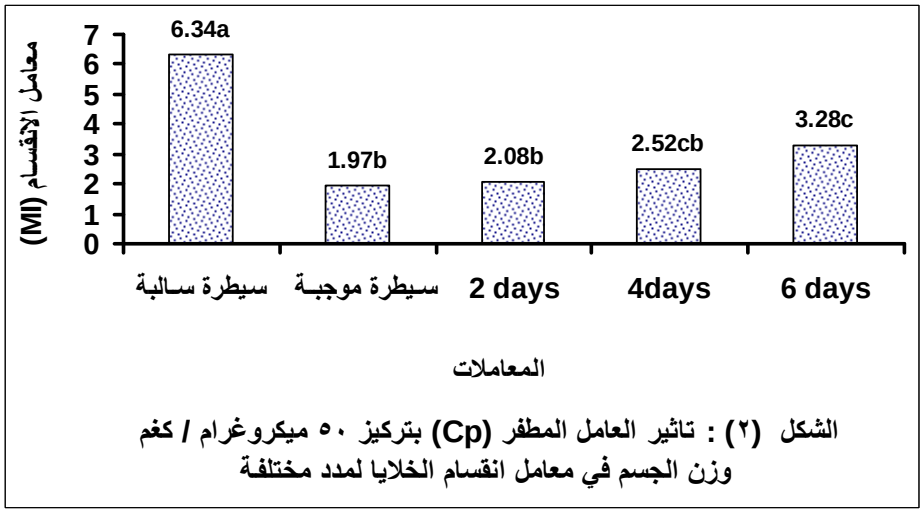
يعد قياس معامل الانقسام احد المقاييس المهمة المستعملة لمعرفة الأضرار الحاصلة للمادة الوراثية ويعبر عنه بالزيادة او النقصان عن الحد الطبيعي للخلايا المنقسمة في الأطوار المختلفة لدورة الخلية .
يوضح الشكل (١) تأثير كميات عصير الجزر التي اختيرت بناءا على تجارب أولية على معامل انقسام الخلايا مقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة (استعمال Cp) .



الشكل (١) :تاثير تراكيز مختلفة من عصير الجزر في معامل الانقسام MI

ويلاحظ ان المطفر Cp قد خفض معامل الانقسام الى٥. % مقارنة بالحالة الاعتيادية التي يصل فيها معامل الانقسام الى ١٣ بحيث كان الفرق معنويا (P <0.01) ، وعند تجريع الحيوانات بعصير الجزر ادى ذلك الى انخفاض طفيف في قيم معامل الانقسام ولكن الانخفاض لم يشكل أهمية معنوية عن الحالة الطبيعية ، وقد اعتمدت الجرعة ٠.٢٥ مللتر من عصير الجزر لإجراء تجارب التداخل مع المطفر Cp اذ لم تسبب هذه الجرعة أي تأثيرات على الحيوانات وكانت قريبة من الحالة الطبيعية (السيطرة السالبة) .

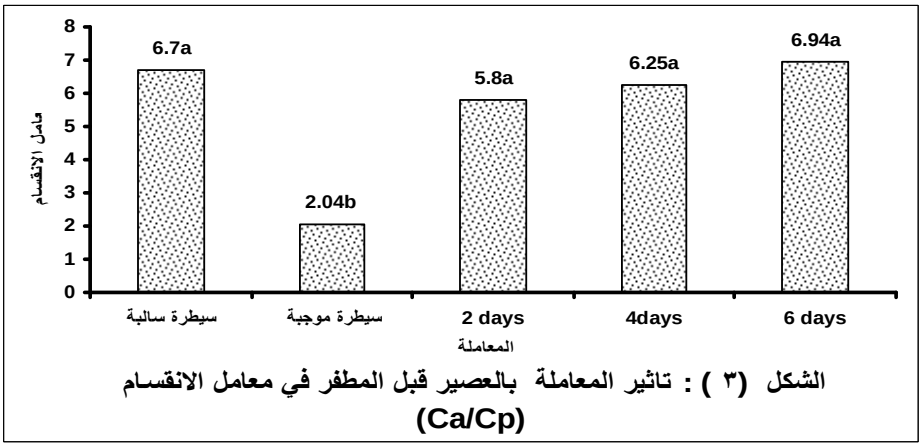
اما تأثير المطفر على معامل الانقسام على مدى ٦ ايم فموضحة في الشكل (٢)



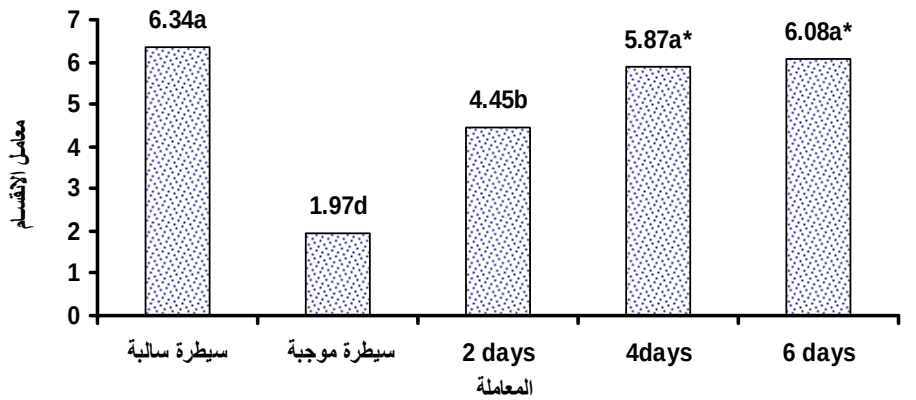
الشكل (٢) : تاثير العامل المطفر (Cp) بتركيز ٥٠ ميكروغرام / كغم وزن الجسم في معامل انقسام الخلايا لمدد مختلفة

اذ جرعت الحيوانات بالمطفر (٥٠ ملغم / كغم) وحضرت منها الشرائح اللازمة بعد مرور ٢ و ٤ و ٦ أيام . ويلاحظ ان عمليات الإصلاح التي تتم في جسم الكائن الحي لم تستطع الرجوع بالمعامل الى القيم العادية لجميع المدد التي فحصت فيها الحيوانات وكانت الفروق معنوية على مستوى احتمال (P<0.01) مقارنة بالحالة الطبيعية وذلك لان Cp من المسرطنات الكيماوية خاصة عندما يتعرض الى التنشيط الايضي اذ أثبتت الدراسات السمية الوراثية لهذا العقار عندما تضاف مجموعة الهيدروكسيل له مكونا 4-hydroxy-cyclophosphamide الذي يتحول بدوره الى Acrolein , Phosphoamide (Hales ، ١٩٨٢ و Ghaskadbi واخرون ، ١٩٩٢) وتعمل المتأيضات الناتجة على تثبيط انقسام الخلايا مثل الخلايا الورمية وخلايا نقي العظم والخلايا اللمفاوية اي ان له قابلية تثبيط انقسام الخلايا Cytostatic drug عن طريق التداخل مع آلية الانقسام الخلوي (Belisario واخرون ، ١٩٨٥ أ) ، وذلك بتكوينه ارتباطات عرضية او نقل مجموعة Alkyl التي تعمل على تكوين ارتباطات او جسور بينها وبين جزيئة DNA عند الذرة N7 الخاصة بقاعدة الكوانين وبالتالي إيقاف الانتساخ في هذه المواقع (Barton واخرون ، ٢٠٠٣و Sanderson و Shield ، ١٩٩٦) ، وتتأثر هذه الفعالية بالعديد من العوامل ، اذ تقل بوجود فيتامين C (Ghaskadbi واخرون ، ١٩٩٢) وكذلك بوجود الكاروتينات (Belisario واخرون ، ١٩٨٥ ب ، Durnev واخرون ، ١٩٩٨) ، وقد زاد معدل

التصحيح والعودة بمعامل الانقسام الى قيم مقاربة للحالة الطبيعية عند استعمال العصير قبل استعمال المطفر كما موضح في الشكل (٣) وكذلك عند استعمال العصير بعد المطفر(الشكل) وكذلك عند استعمال المطفر مع عصير النبات كما موضح في الشكل (٥)



الشكل (٣) : تاثير المعاملة بالعصير قبل المطفر في معامل الانقسام (Ca/Cp)



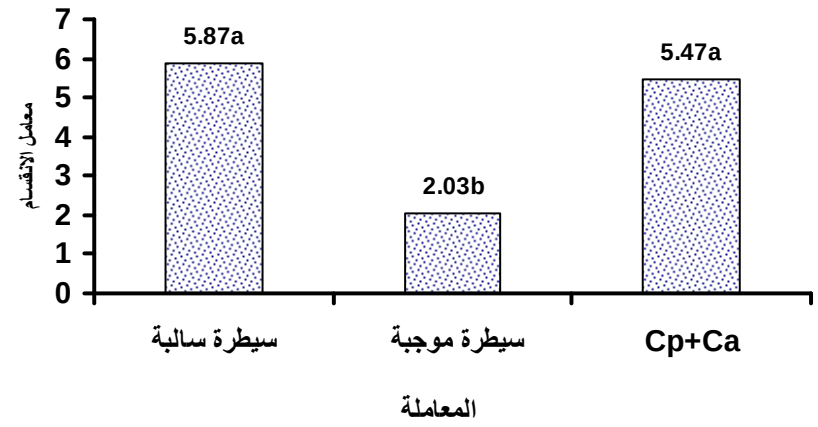
االشكل (٤) : تاثير المعاملة بالجزر بعد استعمال المطفر في معامل انقسام الخلايا (Cp/Ca)

*** مهمة على مستوى P<0.05**

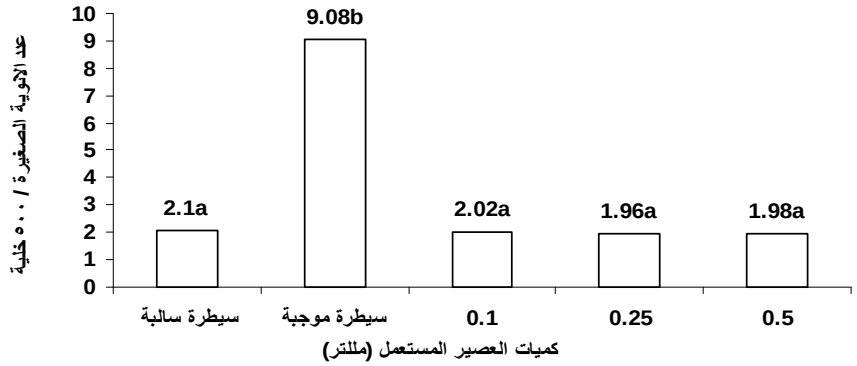
وفي الجزء الثاني من الدراسة والذي تناول تسجيل مدى تكون النوى الصغيرة عند المعاملات المختلفة ، ويوضح الشكل (٦) تأثير الكميات المختلفة من عصير الجزر في تكون النوى الصغيرة مقارنة بالحالة الطبيعة (السيطرة السالبة) والسيطرة الموجبة المتمثلة بوجود المطفر Cp .

ويتضح ان عصير الجزر لم يؤثر على تكوين الانوية الصغيرة بالجرع المستعملة وكانت الفروق غير مهمة معنويا مقارنة بالسيطرة السالبة التي بلغت ٢.١٢ % في حين كانت الفروق مهمة معنويا على مستوى احتمال ($P<0.01$) مقارنة بالسيطرة الموجبة التي بلغت فيها عدد النوى الصغيرة ٩.٠٨ % .

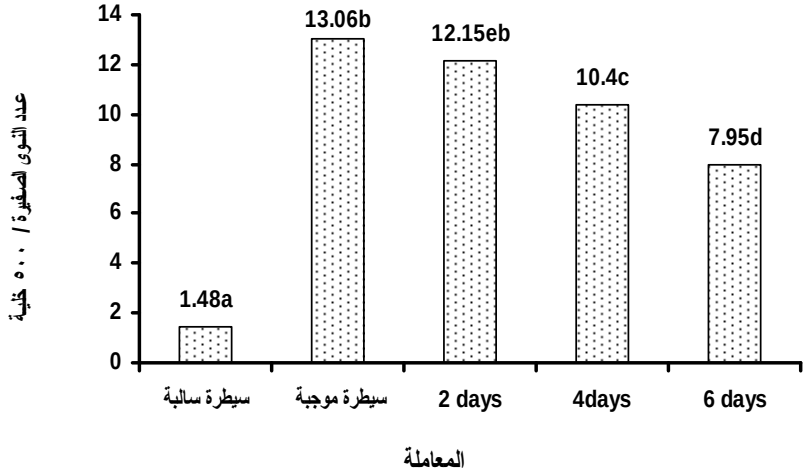
اما تأثير العقار Cp على حث النوى الصغيرة فموضحة نتائجها في الشكل (٧) ، ويلاحظ ان أقصى القيم تحصل بعد مرور ٢ ساعة (السيطرة الموجبة) ثم تبدأ الأعداد بالانخفاض نتيجة لعمليات الاصلاح التي يمكن ان تحدث اضافة الى ان الخلايا الحاوية على النوى الصغيرة تبدأ أعدادها بالانخفاض نتيجة لتكاثر الخلايا أي يحصل لها عملية تخفيف (Heddle واخرون ،١٩٨١) لذلك تؤخذ النماذج بعد مدة ليست بطويلة ولا تتجاوز ٩٦ ساعة . وتمثل النوى الصغيرة احدى التشوهات الكروموسومية حيث ان القطع الكروموسومية غير الحاوية على مركز Acentric fragment لا تندمج في النواة البنوية الناتجة وتستخدم كمقياس للتلف الحاصل للكروموسومات ، وقد سجلت النوى في شريحتين على الاقل لكل فخذ من الحيوانات الثلاثة ، وهذا يعني ان المسح كان على حوالي ٣٠٠٠ خلية التي هي في مرحلة الطور البيني .



الشكل (٥) : تاثير المعاملة بالمطفر مع الجزر في معامل انقسام الخلايا (Ca+Cp)

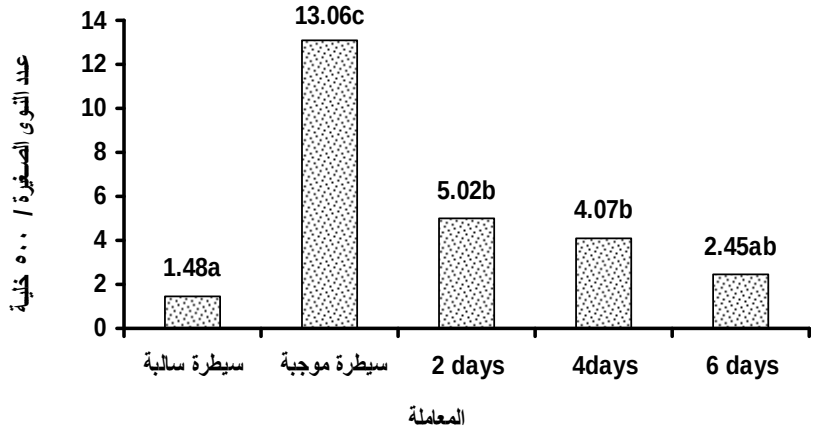


الشكل (٦) : تاثير عصير الجزر في عدد الانوية الصغيرة في الخلايا مقارنة بالسيطرة الموجبة والسالبة

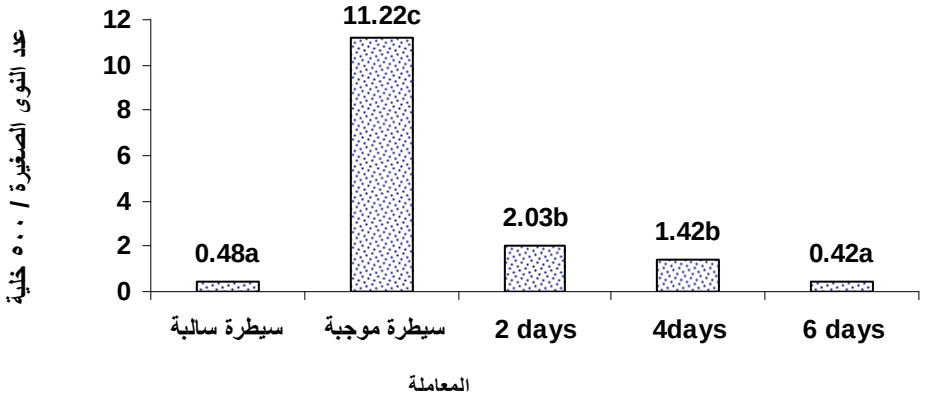


الشكل (٧) :تاثير المطفر Cp في اعداد النوى الصغيرة

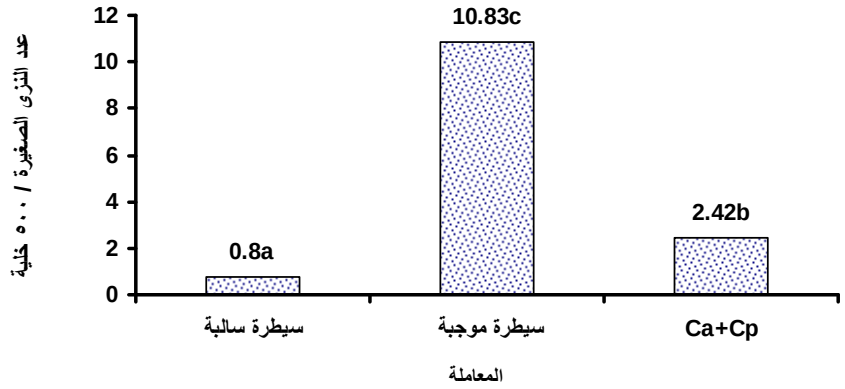
ويوضح الشكل (٨) تاثير اعطاء الجزر بعد استعمال المطفر ، والشكل (٩) إعطاءه قبل المطفر والشكل (١٠) يمثل نتائج اعطاء المطفر مع العصير النباتي سوية على اعداد النوى الصغيرة .



الشكل (٨) : تاثير اعطاء الجزر بعد المطفر (Cp/Ca) في اعداد النوى الصغيرة



الشكل (٩) : تـاثير اعطـاء الجـزر قبـل المطفـر (Ca/Cp) فـي اعـداد النـوى الصـغيرة



الشكل (١٠) :تاثير اعطاء الجزر مع المطفر (Ca+Cp) في اعداد النوى الصغيرة

وكان الهدف من استعمال التداخلات المذكورة لمعرفة الآلية التي يعمل بها عصير الجزر والمركبات الموجودة في تثبيط الأثر السمي الوراثي للمطفر Cp وافضل المدد اللازمة للمعاملة والتخلص من ضرر المطفر . وبشكل عام فان المواد التي تعمل بمثابة مثبطات تطفير مباشرة (Desmutagens) تقوم بتكوين معقدات مع المادة المطفرة او احدى متايضاتها ومنعها من الدخول الى الخلية او يكون التأثير بالتداخل مع الانزيمات التي تساعد على تايض المادة المطفرة بصورة مباشرة وتمنع تحول

المطفر الأولي الى الشكل الفعال ، او تزيد من فعالية الانزيمات المزيلة للسمية الموجودة بصورة طبيعية في الجسم . اما مثبطات التطفير الحيوية Bioantimutagens فهي تعمل على إصلاح التلف بعد حدوثه باكثر من آلية تتضمن زيادة دقة تضاعف DNA وزيادة كفاءة أنظمة الإصلاح (Deflora و Ramel ، ١٩٨٨ ، Kuroda واخرون ، ٢٠٠١) . وتشير النتائج الموضحة اعلاه الى ان عصير الجزر باعتباره مزيجا من المواد يمكن ان تعمل كمثبطات مباشرة وكذلك يحوي مواد تعمل مثبطات داخل الجسم . فالجزر يحوي على عدد من الفيتامينات وبتا - كاروتين وهذه تعمل على حماية المادة الوراثية والبروتينات من فعل الجذور الحرة والناتجة من تأيض المواد المطفرة (Castenmiller واخرون ، ١٩٩٩) .

وقد امتازت مدة التجريع لمدة ٦ ايام على زيادة الحماية وانخفاض عدد النوى (الشكلين ٩ و ٨) اذ قاربت نتائجها نتائج السيطرة السالبة الطبيعية وبدون فروق معنوية وقد يرجع السبب الى الفعل التآزري لمركبات العصير النبات داخل الخلايا ومنافسته للمطفرات ومنع تكوين التشوهات (DNA adducts) وهذه الصفة تظهرها مركبات الكلايكوسيدات والكاروتينات والفلافونات الموجودة في الجزر (Lamson و Brignall ، ١٩٩٩) .

EFFECT OF CARROT JUICE (*DAUCUS CAROTA*) 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 carrot juice at different doses on mitotic index (MI)and micronuclei (Mn) formation was studied in white mice bone marrow cells . The counter effect of juice was also studied against the effects induced by cyclophosphamide (Cp) . Results indicated that carrot juice (0.1 , 0.25 , 0.5) ml administered orally had no effect on MI and formation of micronuclei , while Cp (50 mg / Kg body weight) lowered the MI from 6.34 (The normal level) to 1.97 after 24 hr , and increased the micronuclei from the normal level (1.48) to 13.06 . Different combinations of juice and mutagen such as using juice before mutagen (Ca/Cp) , or juice after mutagen (Cp/Ca) and using juice with mutagen (Ca+Cp) , had different effects , all of them were able to restore the MI to the natural values especially after 6 days . The level of Mn remained elevated compared to the natural values especially in using Cp/Ca and Ca+Cp treatments .

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. and 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.

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

Belisario, A.; R. Pecce; C. Battista; N. Panza, and G. Pacilia (1985b). Inhibition of cyclophosphamide muyagenicity by beta- carotene. Biomed. Pharmacother. 39 : 445 - 448.

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 .

DeFlora, S. and C. Ramel (1988). Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis classification : an overview . Mut . Res . 202 : 285 – 306 . Donaldson , M . (2004) . Nutrition and cancer : A review of the evidence for an anti- cancer . Nutr. J . 3 : 19 - 57 .

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

Durnev , L. ; N. Tjurina ; A . Guseva ; A. Oreshchenko ; G . Volgareva and S. Seredenin (1998). The influence of tow carotenoid food dyes on clastognic activities of cyclophosphamide and dioxidine in mice . Food Chem Toxicol .36 : 1 – 5 .

Evans, W. (2002). Treas and Evan's Pharmacognosy. 15th Edition. W . B. Sanders Comp . Ltd . London , UK .

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

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

Hales, B. (1982). Numerical Chromosomal abnormalities in rat epididymal spermatozoa following chronic cyclophosphamide exposure. Can. Inst. Health Res.

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

Heddle, J. and M. Salamon (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. 2ndEdition. Blackwell Scientific Publications : London .

Knudsen , I . (1986) .Genetic Toxicology of the Diet. Alan R. Liss . New York .

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

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 Function . Revan Press : New York .

Sanderson, B. and A. Shield (1996). Mutagenic damage to mammalian cells by therapeutic alkyating agents . Mut . Res . 355 : 41 – 57 .

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). Spontaneouschromosomal aberrations and SCEs in human lymphocytes effect of culture conditions . Nucleus 29 : 92 – 98.

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 .