التأثير المضاد للطفور لألبان الإبل باستخدام اختبار طفرة العوامل الوراثية المميتة السائدة في الفئران

سلوى محمد قيطه، لينا عبدالفتاح كردي[١]

الملخص العربي

في السنوات الأخيرة كان هُناك العديد من الجُهود الجديرة بالاعتبار والتي ألقت الضَّوء على أهميّةِ استخدام العوامل المضادة للطفور، للحدِّ من التأثيرات السَّامة وراثيًّا للعقاقير المطفرة والمضادة لنُموِّ الأورام، ومن أجلِ ذلك بُذلت الكثير من المحاولات للبحث عن عوامل طبيعيَّة (خاصة في الغذاء)، والتي تكون قادرةً على حثِّ آليات الدفاع داخل جسم الكائن الحيّ.

ولذا هدفت الدراسة إلى تقييم الدَّور الوقائيّ المُحتمل والمُضاد للإطفار لعامل غذائيٍّ ذو مصدر طبيعيٍّ، وهو لبنُ الإبل، ضِدَّ السُّميَّة الوراثية لعقار واسع الاستخدام ضدَّ نُموّ الأورام وهو عقار السيسبلاتين، وذلك في الخلايا الجنسية لذُكور الفئران كنموذجٍ داخل جسم الكائن الحي.

ولتحقيق ذلك تمّ تقسيم ٥٠ من ذكور فئران التجارب إلى خمس مجاميع رئيسة كالتالي:

- مجموعة (أ): شملت الذكور التي عُوملت بالماء المقطَّر واعتبرت المجموعة الضابطة للتجارب.
- مجموعة (ب): شملت الذكور التي عُوملت بالجرعة (٣٣ مل/ كجم من وزن الجسم) من اللبن.
- مجموعة (ج): شملت الذكور التي عُوملت بالجرعة العلاجية (٠,٥ مجم/ كجم من وزن الجسم) من عقار السيسبلاتين.
- مجموعة (د): شملت الذكور التي عُوملت بالجرعة (٣٣ مل/ كجم من وزن الجسم) من اللبن مسبقًا بساعتين ثمّ بالجرعة العلاجيّة (٠,٥ مجم/ كجم من وزن الجسم) من عقار السيسبلاتين.
- مجموعة (هـ): شملت الذكور التي عُوملت بالجرعة (٣٣ مل/ كجم من وزن الجسم) من اللبن ومُتزامنة مع الجرعة العلاجية (٠,٥ مجم/ كجم من وزن الجسم) من عقار السيسبلاتين.

وأظهرت النتائج المُتحصَّل عليها من خلال اختبار العوامل الوراثية المُميتة السائدة بعد تحليلها أنَّ أعلى نسبةٍ للعوامل الوراثية المُميتة السائدة المستحدثة نتيجة المعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين قد تمّ الحصول عليها في الأسبوع الأول، الثاني والخامس. وهذا يدلُّ على أنَّ أكثر المراحل الخلويَّة تأثُّرًا وحساسية بالعقار كانت مرحلة الحيوانات المنويَّة الناضجة، الطلائع المنويَّة المتأخرة والخلايا المنوية الأولية على التوالي.

بينما أحدثت المُعاملات المُزدوجة المسبقة أو المتزامنة باللبن والمعاملة بالجرعة العلاجيّة من العقار انخفاضًا ملحوظًا في قيم العوامل الوراثية المُميتة السائدة المُستحدثة، والتي ظهرت جليًّة خلال المراحل الخلويَّة الأكثر تأثرًا نتيجة المُعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين بمفرده. كما يُلاحظ، أنَّ المعاملة المزدوجة والمسبقة باللبن ثمَّ العقار كانت أكثر استجابة في خفض نسبة العوامل الوراثية المميتة السائدة المستحدثة عن المعاملة المزدوجة والمتزامنة باللبن والعقار خلال مُعظم الأسابيع قيد الاختبار.

ومن نتائج الدراسة يتّضح أنَّ تناول ألبان الإبل مُسبقًا أو مُتزامنًا مع المُعاملة بعقار السيسبلاتين قد أحدث تأثيرات إيجابيةٍ ضِدَّ التأثيرات السَّامة وراثيًّا والناجمة عن المعاملة بالعقار بمفرده، وقد أُعزِيَ التأثير الوقائيّ لألبان الإبل، لقدرة وقابلية بعض مكوناته مثل: الفيتامينات والمعادن على إلتقاط الجُذور الحُرَّة أو نظرًا لاحتوائه على مواد ذات تأثيرات مضادة للأكسدة.

المقدمة والمشكلة البحثية

تعتبر الوجبةُ الغذائيةُ مزيجًا مُركبًا من الكيماويات، والتي من المُمكن أنْ تحتوي على موادَ قد تُقلل من حُدوثِ الإطفار أو السرطنة، وعليه أصبح منْ المُهم التَّعرف على مثل هذه المُثبطات ودراسة آلية عملها لكي تُستخدم للحماية خاصةً ضدَّ مرض السرطان. ففي عام (1983) أفاد Ames أنَّ بعض المواد الطبيعيَّة

[١]كلية العلوم للبنات–جامعة الملك عبدالعزيز– قسم علم الأحياء
"علم الحيوان" جدة، المملكة العربية السعودية
doctorsalwa@gmail.com
استلام البحث في ١٣ مايو ٢٠١٣ الموافقة على النشر في ٢٥ سبتمبر ٢٠١٣

المُتواجدة في غذاء الإنسان تحتوي على عواملٍ لها القُدرةُ على تثبيطِ المُطفرات وأضاف: أنَّ العديد من مُثبطات الإطفار قد أظهرت أنَّها مُثبطةً للسرطنة أيضًا؛ ولذلك توصَّلَ إلى أنَّ البحث عن العوامل المُضادة للإطفار قد يُساعد في اكتشاف العوامل المُضادة للسرطنة. ومن هُنا أصبح من المُهم التَّعرف على مثل هذه المُثبطات ودراسة آلية عملها؛ ليتوفر للإنسان سُبل الوقاية ضدَّ الإصابة بالسرطان (Hayatsu *et al.*, 1993).

وتنقسم العوامل المُضادة للإطفار إلى قسمين:

القسمِ الأولِ: ويضمُّ العواملَ التي تُظهر نشاطها المُضاد للإطفار بعد المُعاملة بالمُطفر لذا فهي تُوصف على أنَّها مُضادات الإطفار الحيوية bioantimutagens وذلك لعلاقتها بعملية إصلاح الطفُور المُستحدثة بواسطة المُطفر (Hongyu and Zili ,1992).

القسمِ الثاني: ويضمُّ العواملَ التي يُطلق عليها مُضاداتُ الإطفار بالإزالة desmutagens؛ وذلك إذا أظهرت نشاطها عند المُعاملة المُتزامنة مع المُطفر والتي من المُحتمل أنْ تُؤدي إلى التثبيط الإنزيمي enzymatic inactivation، أو تثبيط النَّشاط الأيضيَ للمادة الأساسية قبل تحولها إلى مادةٍ مُطفرةٍ promutagen، أو عند المُعاملة قبل المُطفر، لذلك فإن هُناك احتمالاً من أنَّ هذه العوامل قد تستحث بعض الإنزيمات الأيضية والتي تعمل على تثبيط المُطفر (Kuroda *et al*., 1992) أو لها قُدرةٌ على منع تكوين الشَّكل النشط للمُطفر (Oesch,1988) أو قُدرةٌ على التقاط المُطفرات وذلك بالارتباط معها أو ادمصاصها (Hartman and Shankel ,1990) أو تعمل كلواقطَ للجُذور الحُرة التي انطلقت نتيجة المُعاملة بالمُطفر (Hertog *et al* ., 1993).

ومن أسهل الوسائل للحُصول على مثل هذه الحماية التَّعرض للمُثبطات الطبيعية وخُصوصًا عن طريق الغذاء (Hayatsu *et al*., 1993).

لذا ظهرت في السنوات الأخيرة اتجاهاتٌ مُتزايدةٌ لإيجادِ عناصرَ طبيعيَّةٍ مُتواجدةٍ في الغذاء أو في مصادرَ طبيعيَّةٍ أخرى تمتلك تأثيراتٍ وقائيَّةً protective effects ضدَّ العواملِ البيئيَّةِ المُطفرة/ المُسرطنة. وحيث أنّ الأساس الذي بُنيت عليه التجاربُ المُستخدمةُ في اختبار التأثير الوقائيّ (المُضاد للإطفار) لمادةٍ ما، هو إضافتها إلى مادةٍ معروفةٍ بنشاطها الطفوري (Renner,1984)، وهذا ما توصَّل إليه Khaidakov *et al*). 2001) إلى أنَّ العوامل المُسرطنة والتي تُحدث تأثيراتٍ سَّامةً وراثيًّا في حيوانات التجارب يُمكن استخدامها كنقاطَ نهائيةٍ لتحديد الخواص (المُضادة للطفور/ المُضادة للسرطان) للمُركبات التي من المُفترض أنَّها تُعطي الحماية ضِدَّ المُعالجة الكيميائية والتنبؤُ بفاعليتها الوقائيَّة في الإنسان.

ولقد قام كُلاً من Clarke and (Shankel,1975; Gebhart *et al*., 1980) بجمع البُحوث التي تناولت تحديد النَّشاط المُضاد للطفور بواسطة التجارب التي تُعيَّنُ بها الطُفور. وتوصلوا من نتائج هذا المسح الشامل إلى أنَّ الاختبارات الوراثيَّة المُستخدمة والمُفيدة في تعيين المُطفرات يُمكن استخدامها أيضًا في معرفة النَّشاط المُضاد للإطفار للمُواد أو المُركبات الطبيعيَّة منها أو المُصنَّعة.

وهذا ما أشار إليه Azevedo *et al*. (2003) من أهمية استخدام نفس الاختبارات الوراثيَّة في تحديد العوامل المُضادة للإطفار.

من أجلِ ذلك فإنَّه قد وقع اختيارنا في هذه الدراسة على ألبان الإبل camel milk (CM) كمادةٍ مُضادةٍ للإطفار؛ لما لهذه المادة الغذائيَّة من أهميةٍ مصداقًا لقوله ﷺ ﴿وَإِنَّ لَكُمْ فِي الأَنْعَامِ لَعِبْرَةً نُسْقِيكُمْ مِّما فِي بُطُونِهِ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَبَنًا خَالِصًا سَائِغًا لِلشَّارِبِينَ﴾ (سُورة النحل:٦٦).

ونظرًا لعدم توفر الأبحاث الخاصة بالدَّورِ الوقائيِّ لألبانِ الإبلِ، فقد أُجريت هذه الدراسة لتقييم الدَّور الوقائيِّ (المُضاد للإطفار) لألبان الإبل ضدَّ السُّميَّة الخلويَّة والوراثيَّة لعقار السيسبلاتين cisplatin (CDDP) كمادةٍ مُطفرةٍ، حيث أنَّ الدراساتِ السابقةَ أوضحت أنَّ له تأثيراتٍ مُطفرةٍ، منها ما هو في بكتيريا القولون *Escherichia coli* والسالمونيلا *Salmonella typhimurium* (Lantzsch and Gebel; 1997, Overbeck *et al*., 1996). وكذلك تأثيره في إحداث طفرة العوامل الوراثية المُميتة السائدة خلال جميع مراحل تكوين الخلايا الجرثومية الذكرية في حشرة الدروسوفيلا (Choudhury *et al*., 2000). كما أنَّ المُعاملة بعقار

السيسبلاتين تحث على إحداث شذوذات كروموسومية في خلايا أمهات المني والخلايا المنوية الأولية في الفئران (Alder and El-Tarras,1990). كما وجد Kinkkead *et al.* (1992) أن معاملة ذكور الجرذان بجرعات منفردة من عقار السيسبلاتين قد أحدثت انخفاضًا معنويًا في معدل الخصوبة وارتفاعًا عالي المعنوية في عدد الأجنة الميتة قبل الانغماد. أما Seethalakshmi *et al.* (1992) فقد لاحظوا أنّ معاملة ذكور الجرذان بجرعة مقدارها (٠,٥مجم/ كجم) من عقار السيسبلاتين على مدى تسعة أسابيع، قد أحدثت ارتفاعًا معنويًا في عدد الأجنة الميتة بعد الانغماد وكانت المراحل الأكثر تأثرًا هما مرحلتا أمهات المني والخلايا المنوية الأولية.

وسيتم في هذا البحث رصد قدرة اللبن المضادة للإطفار بواسطة الإزالة وذلك عن طريق المعاملة به مسبقًا

أو متزامنًا مع الجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين. ومن النتائج سيتم تعيين أيًّ من المُعاملات المسبقة أو المُتزامنة بجرعة اللبن كانت هي الأفضل من النّاحية الوقائيّة ضدّ السّمية الوراثية لعقار السيسبلاتين.

المواد والطرق

المواد Materials

استخدم عقار السيسبلاتين cisplatin (المعروف تجاريًا باسم cisplatinum) الذي تمّ الحصول عليه من مستشفى الملك عبدالعزيز بجدة، كمحلول سائل جاهز التحضير(EBWE PHARMAAUSTRIAL). كما استخدم في هذه الدراسة لبن الإبل من سلالة

C. Hamra breed dromedaries، والذي تمّ الحصول عليه من ثلاث إناث من الإبل المرضعة(3.5- 4 monthes of laction) المتغذية على نفس النوع من الطعام(barly and Lucerne) وتمّ اختيار هذه الإبل من مزرعة عسفان بمنطقة جدة. وتمّ تجميع اللبن في الصباح ووضع في قوارير نظيفة ومعقمة وحفظ في الثلج أثناء نقله إلى المعمل حيث تمّ تخزينه في ثلاجة عند درجة حرارة ٣ْم.

الحيوانات المستخدمة Animals

أجريت تجارب هذا البحث على مجموعة من ذكور الفئران البيضاء Albino mice (*Mus Musclus*,2n= 40) من سلالة MFI البالغة من العمر ٩-١١أسبوعًا والتي تمّ الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لمركز الملك فهد الطبي الموجود بجامعة الملك عبدالعزيز بجدة، حيث وضعت هذه الفئران في أقفاص بلاستيكية خاصة تحت ظروف معملية مناسبة في غرفة خاصة جيّدة التهوية، درجة الحرارة ٢٢ْم إلى ٢٥ْم، ورطوبة نسبية ٤٥%- ٧٥%، وذات إضاءة مناسبة ١٢ساعة إنارة نهارًا و١٢ساعة ظلام ليلاً. وكان يتم توفير الماء لها يوميًّا وتغذيتها بالعلائق الجافة المتوازنة الخاصة بحيوانات التجارب.

الطرق Methods

طبق في هذا البحث برنامج يُعتبر ممن أكثر البرامج استخدامًا لتقييم القدرة المطفرة للمركبات الكيميائية المختلفة، ويُعرف هذا البرنامج باسم المنهج القياسي للعوامل الوراثية المميتة السائدة the standard dominant lethal protocol تبعًا للعالم (Ehling *et al.*, 1978) واستخدم في هذا الاختبار ٥٠ فأرًا من الذكور و٦٠٠ من الإناث.

تصميم التجارب Experimental design

قسمت ذكور الفئران في تجارب هذا البحث إلى خمسة مجاميع رئيسة وهي:

- مجموعة(أ): شملت الذكور التي عوملت بالماء المقطر واعتبرت المجموعة الضابطة للتجارب.
- مجموعة(ب): شملت الذكور التي عوملت بالجرعة(٣٣مل/ كجم من وزن الجسم) من اللبن.
- مجموعة(ج): شملت الذكور التي عوملت بالجرعة العلاجية (٢٠مجم/ متر مربع من مساحة الجسم) من عقار السيسبلاتين.
- مجموعة(د): شملت الذكور التي عُوملت مسبقًا بالجرعة(٣٣مل/ كجم من وزن الجسم) من اللبن ثم عُوملت بعد ساعتين بالجرعة العلاجية(٢٠مجم/ متر مربع) من عقار السيسبلاتين.
- مجموعة(هـ): شملت الذكور التي عُوملت متزامنًا بالجرعة (٣٣مل/كجم من وزن الجسم) من اللبن ثم عُوملت بالجرعة العلاجية(٢٠مجم/متر مربع) من عقار السيسبلاتين.

وتمّ إعطاء الماء المقطر واللبن عن طريق الفم بواسطة أنبوبة معدية. أما العقار فكان عن طريق الحقن في التجويف البريتوني intraperitoneal injection (i.p.) ولمدة خمسة أيام متتالية تبعًا (Chabner *et al.*, 2006) والمعدلة للفئران إلى (٠,٥ مجم/ كجم/ يوميًا) طبقًا (Paget and Barnes, 1964)

بعد معاملة ذكور الفئران في كل الفئات السابقة ولمدة خمسة أيام متتالية، تركت هذه الفئران لمدة يومين. وفي بداية اليوم الثامن– من بعد أول معاملة– وُزعت بحيث يحتوي كل قفص على فأر واحد، وضعت فيه اثنتان من إناث الفئران التي تراوحت أعمارهنّ من ١٠–١٢أسبوعًا لم يسبق تزاوجها من قبل، وتركت للتزاوج لمدة ٥أيام وفي بداية اليوم الثالث عشر– من بعد أول معاملة– تمّ فصل الإناث عن الذكور، وتُركت الذكور لمدة يومين آخرين بدون إناث، ثمّ تمّ تكرار هذه العملية أسبوعيًّا ولمدة ٦أسابيع متعاقبة. وفي بداية كل أسبوع توضع الذكور في أقفاص جديدة فيها إناث لم يسبق تزاوجها من قبل، أما الإناث التي يتم فصلها أسبوعيًّا، أُخِذت وشُرِّحت كل مجموعة على حده – وذلك بعد ١٤يومًا من منتصف الأسبوع الذي وضعت فيه مع الذكور– وتمّ حساب عدد الإناث الحوامل من العدد الكلي للإناث التي تمّ وضعها مع الذكور لكل أسبوع على حده.

وتمّ فتح رحم كل أنثى حامل على حده وفحصت محتوياته وسجل منه العدد الكلي للإنغمادات، وحُدّد عدد الإنغمادات الحية وعدد الإنغمادات الميتة كما تمّ حساب عدد الأجنة الميتة سواء في مرحلة مبكرة من النمو أو في مرحلة متأخرة منه، ومن ثمّ حساب نسبة حدوث العوامل الوراثية المميتة السائدة تبعًا لمعادلة كيرك وليون (Krik and Lyon, 1984) كالآتي:

$$1 - \left[\frac{Live \frac{implants}{\square} Total\ implants\ (treated)}{Live \frac{implants}{\square} Total\ implants (control)}\right] \times 100$$

أما نسبة تكرار العوامل الوراثية المميتة السائدة فقد تمّ حسابها تبعًا لمعادلة العالم أهلنج وآخرون (Ehling *et al.*, 1978) كالآتي:

$$1 - \left[\frac{Live \frac{implants}{\square}\ pregnant\ treated\ females}{Live \frac{implants}{\square}\ pregnant\ control\ females}\right] \times 100$$

ومن خلال النتائج المتحصل عليها تمّ تحديد أيّ من المراحل الخلوية في عملية تكوين الحيوانات المنوية قد كانت أكثر حساسية وتأثرًا بالمعاملات المختلفة، حيث أن كل أسبوع من الأسابيع الستة قيد الاختبار يعتبر مؤشرًا لمرحلة خلوية معينة من مراحل تكوين الحيوانات المنوية Spermatogemesis (Anderson *et al.*, 1983).

الأسبوع الأول(٧–١٢) ⟵ مرحلة الحيوانات المنوية الناضجة Spermatozoa.

الأسبوع الثاني(١٤–١٩) ⟵ مرحلة الطلائع المنوية المتأخرة Late Spermatids.

الأسبوع الثالث(٢١–٢٦) ⟵ مرحلة الطلائع المنوية المبكرة Early Spermatids.

الأسبوع الرابع(٢٨–٣٣) ⟵ مرحلة الخلايا المنوية الثانوية Secondary Spermatocytes.

الأسبوع الخامس(٣٥–٤٠) ⟵ مرحلة الخلايا المنوية الأولية Primary Spermatocytes.

الأسبوع السادس(٤٢– ٤٧) ⟵ مرحلة أمهات المني Spermatogonia.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم حساب معنوية النتائج المتحصل عليها من جميع الاختبارات عن طريق تطبيق اختبار student 't' test، وتحليل التباين ANova، حيث اعتبرت النتائج معنوية عند مستوى ٠,٠٥ ويرمز لها بنجمة واحدة * ، وعالية المعنوية عند مستوى ٠,٠١ ويرمز لها بنجمتين **، وفائقة المعنوية عند مستوى ٠,٠٠١ ويرمز لها *** (Haseman and Soares, 1976).

النتائج ومناقشتها

أ- التأثير على العدد الكلي للإنغمادات:

يتضح من النتائج في جدول(١) أن الأسبوع الرابع من آخر معاملة هو الأسبوع الذي لوحظ فيه ارتفاعًا معنويًا في متوسط العدد الكلي للإنغمادات نتيجة المعاملة المزدوجة المسبقة فقط باللبن ثم العقار حيث وصلت قيمته (١٠,٢٢ ± ٠,٤٠) مقارنة بقيمة

المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار (٨,٦١ ± ٠,٤٤) (شكل:١).

ب-التأثير على العدد الكلي للإنغمادات الحية:

بالنظر إلى جدول(٢) يتضح أنّ المعاملة المزدوجة المسبقة باللبن ثم العقار أدت إلى ارتفاع معنوي في متوسط العدد الكلي للإنغمادات الحية وصلت قيمته إلى (٩,٠٧ ± ٠,٥٢) وارتفاعًا عالي المعنوية نتيجة المعاملة المزدوجة المتزامنة من اللبن والعقار قيمته (١٠,٠± ٠,٥١) في الأسبوع الأول من آخر معاملة مقارنة بالمتوسط الناتج عن المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار (٧,٦١± ٠,٨٣) (شكل: ٢). بينما سجلت المعاملة المزدوجة باللبن مسبقًا أو متزامنًا مع العقار انخفاضًا واضحًا وخصوصًا في الأسبوع الأول والثاني والخامس. بينما كان هناك ارتفاعًا عالي المعنوية في متوسط العدد الكلي للإنغمادات الحية في كل من الأسبوع الثاني والرابع نتيجة المعاملة المزدوجة المسبقة فقط باللبن ثم العقار فكانت (١٠,٠± ٠,٤٩) و(٩,٦٧± ٠,٨٣) على التوالي مقارنة بالمعاملة بالجرعة العلاجية لكلا الأسبوعين (٧,٨٤ ± ٠,٥٦) و(٧,٥٠ ± ٠,٦١) على التوالي.

ج-التأثير على معدل الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو:

يظهر من نتائج جدول(٣) أن المعاملة بالجرعة العلاجية ٢٠مجم/كجم من عقار السيسبلاتين قد أحدثت إرتفاعًا معنويًا في متوسط عدد الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو ظهرت جلية خلال الأسبوع الأول والخامس من آخر معاملة (شكل:٣) وصلت قيمته إلى (٢,١٧± ٠,٤١) و(١,٦٥± ٠,٢٨) على التوالي مقارنة بقيم العينة الضابطة التي كانت(١,١٨ ± ٠,٣٠) للأسبوع الأول و(٠,٨٠± ٠,٢٢) للأسبوع الخامس من آخر معاملة.

أما المعاملة المزدوجة المسبقة والمتزامنة من اللبن والعقار فقد أظهرت تحسنًا واضحًا في خفض معدل الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة. حيث أظهرت انخفاضًا عالي المعنوية في الأسبوع الأول قيمته (٠,٦٧ ± ٠,٩١) وانخفاضًا معنويًا في الأسبوع الثاني (٠,٦٥± ٠,١٨) والأسبوع الثالث (٠,٤٧ ± ١٩) نتيجة المعاملة المزدوجة المسبقة مقارنة بالقيم المتحصل عليها في نفس الأسابيع وهي (٢,١٧± ٠,٤١)، (١,٨٩± ٠,٤٨)، (١,٠٦± ٠,٢١) على التوالي نتيجة المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار.

بينما المعاملة المزدوجة المتزامنة من اللبن والعقار فقد أظهرت انخفاضًا معنويًا في الأسبوع الأول فقط قيمته (٠,٩٤± ٠,٢٤). مقارنة بالمعاملة بعقار السيسبلاتين (٢,١٧± ٠,١٤).

د- التأثير على معدل الأجنة الميتة في مرحلة متأخرة من النمو:

يتضح من الجدول(٤) أن المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار قد أحدثت ارتفاعًا معنويًا في متوسط الأجنة الميتة في مرحلة متأخرة من النمو قيمته (٠,٢٦ ± ٠,١٣) في الأسبوع الثاني من آخر معاملة مقارنة بالمجموعة الضابطة التي كانت قيمتها صفر.

أما المعاملة المزدوجة المسبقة والمتزامنة باللبن والعقار فقد أحدثت تحسّنًا وانخفاضًا معنويًا في متوسط عدد الأجنة الميتة في مرحلة متأخرة من النمو ولكن خلال الأسبوع الأول فقط من آخر معاملة حيث وصلت القيم إلى (٠,٠٧ ±٠,٠٧) للمعاملة المسبقة و(٠,٠٦± ٠,٠٦) للمعاملة المتزامنة مقارنة بالمعاملة بالعقار والتي كانت قيمتها (٠,٥٦± ٠,٢٢).

ه- التأثير على نسبة العوامل الوراثية المميتة السائدة المستحدثة:

يلاحظ من الجدول (٥) أن المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار قد أحدثت ارتفاعًا في نسبة العوامل الوراثية المميتة السائدة وظهرت بوضوح في الأسبوع الأول والثاني والخامس حيث وصلت نسبه إلى ١٤,١%، ١٢,٣% و٩,٨% على التوالي.

بينما أحدثت المعاملة المزدوجة المسبقة والمتزامنة باللبن والعقار تحسّنًا وانخفاضًا ملحوظًا في هذه النسب فكانت -٢٥,٥%، -١٨,٧% و-٤,٣% لنفس الأسابيع على التوالي نتيجة المعاملة المزدوجة المسبقة من اللبن ثم العقار بينما أصبحت -٢٣,٤%، -١٣,٣% و -١١,٤ لكلٍ من الأسبوع الأول والثاني والخامس على التوالي نتيجة المعاملة المزدوجة المتزامنة من اللبن والعقار.

و- التأثير على النسبة المئوية لتكرار العوامل الوراثية المميتة السائدة:

يتّضح من الجدول(٦) أنّ المعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين قد أحدثت ارتفاعًا في تكرار العوامل الوراثية المميتة

السائدة مقارنة بالمجموعة الضابطة وكان هذا الارتفاع متمثلاً في معظم الأسابيع قيد الاختبار.

كما تشير النتائج المتحصل عليها من تحليل التباين في جدول(٧) أنّ الأسبوع الأول قد كان هو الأسبوع الذي سجّل فقط فرقًا عالي المعنوية (P<٠,٠١) في متوسط العدد الكلي للإنغمادات الحية مقداره (F=٣,٨٢) ما بين المعاملة باللبن أو بالجرعة العلاجية من العقار والمعاملات المزدوجة المسبقة والمتزامنة من اللبن والعقار وذلك مقارنة بالعينة الضابطة.

جدول٧. مقارنة أثر المعاملة باللبن أو بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين والمُعاملات المزدوجة المُسبقة أو المُتزامنة باللبن والعقار على مُتوسط العدد الكلي للانغمادات الحية من خلال تحليل التباين وأقل فرق معنوي على مدى الأسابيع الستة قيد الاختبار

اختبار المقارنة لأقل فرق معنوي (LSD)			تحليل أنوفا (ANOVA)			
المعنوية (Sig)	الفروق ما بين المتوسطات	فئات المعاملة	المعنوية (Sig)	قيمة (F)		
	٠,٣٥	(ب)			الفئة (أ) العينة الضابطة	الأسبوع الأول
	٠,٩٢	(ج)				
	-٠,٥٤	(د)				
*	-١,٤٧	(هـ)	**	٣,٨٢		
	-٠,٧٠	(ب)			الفئة (أ) العينة الضابطة	الأسبوع الثاني
	٠,٧٤	(ج)				
	-١,٤٢	(د)				
	-٠,٦٣	(هـ)		١,٩٧		
	٠,٢٧	(ب)			الفئة (أ) العينة الضابطة	الأسبوع الثالث
	-٠,٧٥	(ج)				
	-٠,٢٦	(د)				
	٠,١٣	(هـ)		٠,٦٩		
	٠,٣٨	(ب)			الفئة (أ) العينة الضابطة	الأسبوع الرابع
	٠,٦٨	(ج)				
	-١,٤٩	(د)				
	-٠,٧٦	(هـ)		٢,١٥		
	-٠,٧٧	(ب)			الفئة (أ) العينة الضابطة	الأسبوع الخامس
	٠,٤٧	(ج)				
	٠,٢٨	(د)				
	-٠,٩٤	(هـ)		١,٢٢		
	٠,٥٠	(ب)			الفئة (أ) العينة الضابطة	الأسبوع السادس
	٠,١٠	(ج)				
	-١,١١	(د)				
	-٠,٤٣	(هـ)		١,١٢		

(ب): المعاملة بالجرعة (٣٣مل/ كجم) من اللبن.

(ج): المعاملة بالجرعة (٠,٥مجم/ كجم) من عقار السيسبلاتين

(د): المعاملة المزدوجة والمسبقة بالجرعة (٣٣مل/كجم ← ٠,٥ مجم/ كجم)

(هـ): المعاملة المزدوجة والمتزامنة بالجرعة (٣٣مل/ كجم + ٠,٥ مجم/ كجم

* معنوي عند ٠,٠٥

** معنوي عند ٠,٠١

*** معنوي عند ٠,٠٠١

جدول ٨. مقارنة أثر المعاملة تحت الحادة باللبن أو بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين والمُعاملات المزدوجة المُسبقة أو المُتزامنة باللبن والعقار على مُتوسط عدد الأجنّة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو من خلال تحليل التباين وأقل فرق معنوي على مدى الأسابيع الستة قيد الاختبار

الأسبوع	المجموعة	اختبار المقارنة لأقل فرق معنوي (LSD): المعنوية (Sig)	الفروق ما بين المتوسطات	فئات المعاملة	تحليل أنوفا (ANOVA): المعنوية (Sig)	قيمة (F)
الأسبوع الأول	الفئة (أ) العينة الضابطة		٠,٣٥	(ب)		
		*	-٠,٩٩	(ج)		
			٠,٥١	(د)		
			٠,٢٣	(هـ)	**	٤,١٢
الأسبوع الثاني	الفئة (أ) العينة الضابطة		٠,٠٠	(ب)		
			-٠,٨٩	(ج)		
			٠,٣٥	(د)		
			٠,٠٥	(هـ)	*	٢,٦٤
الأسبوع الثالث	الفئة (أ) العينة الضابطة		٠,١٨	(ب)		
			-٠,٠٦	(ج)		
			٠,٥٣	(د)		
			-٠,٠٦	(هـ)		١,٠٧
الأسبوع الرابع	الفئة (أ) العينة الضابطة		-٠,٠١	(ب)		
			٠,٠٦	(ج)		
			٠,٥٦	(د)		
			٠,٤٧	(هـ)		٠,٩٨
الأسبوع الخامس	الفئة (أ) العينة الضابطة		-٠,١٥	(ب)		
		*	-٠,٨٥	(ج)		
			-٠,٧٠	(د)		
			٠,٠٨	(هـ)		١,٥٥
الأسبوع السادس	الفئة (أ) العينة الضابطة		٠,٣٠	(ب)		
			٠,٠٠	(ج)		
			٠,١٢	(د)		
			٠,٢١	(هـ)		٠,٢٣

(ب): المعاملة بالجرعة (٣٣مل/ كجم) من اللبن.

(ج): المعاملة بالجرعة (٠,٥مجم/ كجم) من عقار السيسبلاتين

(د): المعاملة المزدوجة والمسبقة بالجرعة (٣٣مل/كجم ← ٠,٥ مجم/ كجم)

(هـ): المعاملة المزدوجة والمتزامنة بالجرعة (٣٣مل/ كجم + ٠,٥ مجم/ كجم

* معنوي عند ٠,٠٥

** معنوي عند ٠,٠١

*** معنوي عند ٠,٠٠١

وبعمل اختبار المقارنة باستخدام أقل فرق معنوي LSD ظهر خلال الأسبوع الأول أن المعاملة المزدوجة المتزامنة باللبن والعقار قد كانت هي المعاملة التي أحدثت فقط فرقًا معنويًا(٠,٠٥% > P) في متوسط العدد الكلي للإنغمادات الحية وبذلك يمكن ترتيب المعاملات من حيث تأثيرها الأعلى كالتالي:

المعاملة المزدوجة المتزامنة > المعاملة المزدوجة المسبقة > المعاملة باللبن > المعاملة بالعقار.

وبالنظر إلى النتائج المتحصل عليها من تحليل التباين جدول (٨) يظهر أن الأسبوع الأول قد سجل فرقًا عالي المعنوية في متوسط الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو ما بين المعاملة باللبن أو

بالجرعة العلاجية من العقار والمعاملات المزدوجة المسبقة أو المتزامنة باللبن والعقار مقداره (F=٤,١٢) مقارنة بالعينة الضابطة، في حين أحدثت نفس المعاملات السابقة خلال الأسبوع الثاني فرقًا معنويًا فقط مقداره (F =٢,٦٤) مقارنة بالعينة الضابطة.

وبعمل اختبار المقارنة من خلال حساب LSD ظهر أن المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار هي فقط التي أحدثت فرقًا معنويًا في متوسط الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو خلال الأسبوع الأول والخامس.

ولمعرفة التأثير الوقائي لألبان الإبل ضد السُمية الوراثية الناتجة عن المعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين يمكن النظر في جدول(٩) وفيه يتضح أن المعاملة المزدوجة المسبقة باللبن ثم بالجرعة العلاجية من العقار(٣٣مل/ كجم ➔ ٠,٥مجم/كجم) هي المعاملة التي أحدثت إنخفاضًا ملحوظًا في كل البنود الموضحة في الجدول والتي تمّ تقديرها للوصول إلى نسبة العوامل الوراثية المميتة السائدة المستحدثة وتقييم الدور الوقائي للمعاملة باللبن.

وقد كان هذا الانخفاض محلوظًا في قيم هذه العوامل الوراثية المميتة السائدة المستحدثة خصوصًا خلال الأسبوع الأول والثاني والخامس مقارنة بما أحدثته المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار بمفرده.

المناقشة Discussion

أُجريت هذه الدراسة لمعرفة الفعل الوقائي المحتمل لألبان الإبل ضد السُّمية الوراثية لعقار السيسبلاتين. ولتحقيق ذلك تركّزت الدراسة في هذا البحث على محورين رئيسين:

المحور الأول: قياس السّمية الوراثية للمعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين. وكذلك للجرعة التي تمّ تحديدها من ألبان الإبل خلال التجارب الأولية.

المحور الثاني: قياس النشاط المضاد للطفور (للجرعة التي تمّ تحديدها) من ألبان الإبل، وذلك عن طريق المعاملات المزدوجة المسبقة أو المتزامنة من اللبن مع المعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين.

واستخدم لهذا الغرض اختبار العوامل الوراثية المميتة السائدة وهو اختبار قياسي يُجرى عادة على الفئران للتعرف على القدرة المطفرة في خلايا الثدييات، وهو يقيّم الأثر المطفر على الخلايا الجنسية الذي قد ينتقل إلى النسل مؤديًا إلى موت الحالة الخليطة في الأجنّة الناتجة، وطفرة العوامل الوراثية المميتة السائدة ما هي إلا تغيّر وراثي في الجاميطات (سواءً البويضة أو الحيوان المنوي) ينتج عنه موت الأجنة التي ورثت هذا التغير وبالتالي يمكن قياسه بمعرفة عدد الأجنة الميتة (James and Smith, 1982)، كما أوضح Singh et al.(2003) أنّ طفرة العوامل الوراثية المميتة السائدة التي تحدث في الخلايا الجنسية لا تُسبب فقدًا في الوظيفة الحيوية للجاميطات، بل تسبب موتًا للبويضات الملقحة أو موتًا للأجنّة النامية، ووصف Shelby et al.(1993) اختبار العوامل الوراثية المميتة السائدة في الفئران بأنّه تحليل أولي لتحديد التأثيرات الوراثية للكيماويات في الخلايا الجنسية، كما أفاد Jha and Bharti (2002) أنّ تحليل طفرة العوامل الوراثية المميتة تساعد في تصنيف العوامل التي تظهر الضرر الناتج عن التلف الوراثي الموروث أو عن الطفرات المستحدثة خلال المراحل الخلوية المختلفة لعملية تكوين الحيوانات المنوية والمتأثرة نتيجة التعرّض للمركبات الكيميائية المتنوّعة.

وأظهرت نتائج اختبار العوامل الوراثية السائدة والمتوصَّل إليها في هذه الدراسة أنّ المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار قد أحدثت زيادة معنوية في متوسط الأجنة الميتة سواء أكانت في مرحلة مبكرة أم متأخرة من النمو جدول(٣) مسجلّة أعلى تأثير لها خلال الأسبوعين الأول والخامس لمتوسط الأجنّة الميّتة في مرحلة مبكرة من النمو وخلال الأسبوع الثاني لمتوسط الأجنّة الميّتة في مرحلة متأخرة من النمو جدول (٤). وقد ظهرت مدى فاعلية هذا العقار في استحداث عوامل وراثية مميتة سائدة والتي بدت جليّة خلال الأسبوع الأول، الثاني والخامس نتيجة المعاملة بالجرعة العلاجية من العقار حيث سجلت (١٤,١٠%)، (١٢,٣٠%)، (٩,٨٠%) على التوالي. وهذا يدل على أنّ أكثر المراحل الخلوية تأثرًا وحساسية بالعقار كانت مرحلة الحيوانات المنوية الناضجة spermatozoa والطلائع المنوية المتأخرة late spermatids والخلايا المنوية الأولية primary spermatocytes على التوالي (جدول: ٥).

وتقدّم نتائج هذا الاختبار دليلاً قويًا على القدرة المطفرة لعقار السيسبلاتين وهذا ما أشار إليه Seethalakshmi *et al.* (1992) من

أنّ معاملة ذكور الجرذان بعقار السيسبلاتين قد أحدثت ارتفاعًا معنويًا في عدد الأجنة الميتة بعد الانغماد. وسجل Ehling (1994) أنّ المعاملة بعقار السيسبلاتين قد أحدثت طفرات موقعية خاصةً specific locus mutations في الطلائع المنوية، وكذلك ما وجدته Quita and Kurdi (2009) في دراستهم السابقة أنّ المعاملة بالجرعات المختلفة من عقار السيسبلاتين قد أحدثت زيادة معنوية في عدد الأجنة الميتة مسجلة أعلى تأثيرًا لها في الأسبوعين الثالث والرابع أي في مرحلتي الطلائع المنوية المبكرة والخلايا المنوية الثانوية.

وأوضحت النتائج التي سُجلَت من خلال تحليل العوامل الوراثية المميتة السائدة أنّ المعاملة بالجرعة المقدرة (٣٣مل/ كجم) من ألبان الإبل لم تُحدِث أية تأثيرات سلبية واضحة على دليل الخصوبة، العدد الكلي للإنغمادات، العدد الكلي للإنغمادات الحية، عدد الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة أو متأخرة من النمو أو على استحداث العوامل الوراثية المميتة السائدة خلال الأسابيع الستة قيد الاختبار.

أما المعاملات المزدوجة باللبن مع المعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين فقد أحدثت ارتفاعًا ملحوظًا ظهر بدرجة معنوية خلال بعض الأسابيع قيد الاختبار في كل من متوسط العدد الكلي للإنغمادات والعدد الكلي للإنغمادات الحية. كما سجّلت المعاملات المزدوجة انخفاضًا واضحًا في أعداد الأجنّة الميتة سواءً أكانت في مرحلة مبكرة أم متأخرة من النمو ظهرت جليّةً خلال الأسبوع الأول من آخر معاملة نتيجة المعاملة المزدوجة المسبقة أو المتزامنة باللبن والعقار (جدول:١، ٢، ٣، ٤).

كما بدا مدى فاعلية المعاملات المزدوجة المسبقة أو المتزامنة باللبن والمعاملة بالجرعة العلاجية من العقار في خفض قيم العوامل الوراثية المميتة السائدة المستحدثة والتي بدت جليّة خلال المراحل الخلويّة الأكثر تأثرًا نتيجة المعاملة بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين والتي تمثلت في مرحلة الحيوانات المنوية الناضجة والطلائع المنوية المتأخرة والخلايا المنوية الأولية فكانت نسبتها (-٢٥,٥٠%)،(-٢٣,٤٠%) خلال الأسبوع الأول ثمّ كانت في الأسبوع الثاني (-١٨,٧٠%)، (-١٣,٣٠%) وأصبحت في الأسبوع الخامس (-٤,٣٠%)، (-١١,٤٠%) على التوالي. ولوحظ أيضًا أن المعاملة المزدوجة والمسبقة باللبن ثم العقار قد كانت أكثر استجابة في خفض نسبة العوامل الوراثية المميتة السائدة المستحدثة عن المعاملة المتزامنة باللبن والعقار خلال معظم الأسابيع قيد الاختبار (جدول: ٥).

وبالنظر إلى نتائج تحليل التباين ظهر الفرق المعنوي ما بين المعاملات باللبن أو بالجرعة العلاجية من العقار والمعاملات المزدوجة المسبقة أو المتزامنة باللبن والعقار في متوسط العدد الكلي للإنغمادات الحية خلال الأسبوع الأول فقط من آخر معاملة (جدول: ٦)، وفي متوسط الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو خلال الأسبوعين الأول والثاني من آخر معاملة (جدول: ٧).

وبعمل اختبار المقارنة LSD فإنّ الفرق المعنوي ظهر في متوسّط العدد الكلي للإنغمادات الحيّة خلال الأسبوع الأول نتيجة المعاملة المزدوجة المتزامنة باللبن والعقار، وبذلك أمكن ترتيب المعاملات من حيث تأثيرها الأعلى في ارتفاع العدد الكلي للإنغمادات الحية كالتالي:

المعاملة المزدوجة المتزامنة> المعاملة المزدوجة المسبقة> المعاملة باللبن> المعاملة تحت الحادة بالعقار.

كما ظهر أيضًا الفرق المعنوي في متوسط الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو خلال الأسبوعين الأول والخامس نتيجة المعاملة بالعقار، ومن هنا أمكن ترتيب المعاملات من حيث تأثيرها الأعلى في ارتفاع الأجنة الميتة في مرحلة مبكرة من النمو خلال الأسبوعين الأول والخامس على التوالي كالتالي:

المعاملة بالعقار> المعاملة المزدوجة المتزامنة> المعاملة باللبن> المعاملة المزدوجة المسبقة

وبهذا نجد من النتائج المتحصل عليها والتي اختبرت القدرة المطفرة لعقار السيسبلاتين أنّ المعاملة المزدوجة باللبن مع المعاملة بعقار السيسبلاتين قد قللت من التأثير السُّمي الوراثي والذي أحدثته المعاملة بعقار السيسبلاتين بمفرده، والميكانيكية التي يقوم بها لبن الإبل في الحد من التأثيرات المطفرة لازالت غير معروفة. ولكن تقترح الدراسة الحالية أن قدرة ألبان الإبل في الحد من التأثيرات السامة وراثيًا لعقار السيسبلاتين إنّما تُعزى إلى أن اللبن يعتبر عاملاً قويًا مضادًا للأكسدة وذلك نظرًا لاحتوائه على:

مجموعة من الفيتامينات: أهمها فيتامين A, B_6, C, E, K_3 والذي أثبتت الأبحاث السابقة قدرتها (كمواد مضادة للأكسدة) في الحد من التأثيرات السُّمية الخلويَّة والوراثيّة الناجمة عن المعاملة بعقار السيسبلاتين (Zhao and Huang, 1992; Giri *et al.*, 1998; Antunes *et al.*, 2000b; Nefic, 2001) وذلك عن طريق زيادة معدل الجلوتاثيون (GSH) في الأنسجة المختلفة، مما يزيد من قدرة الخلايا على حماية نفسها من التأثير المطفر لعقار السيسبلاتين. وبعض الدراسات تقترح أنَّ الجلوتاثيون ومجموعة الأسكوربيتات ascorbate pools لربما تتفاعل مع بعضها البعض داخل الخلايا منتجة تأثيرات وقائية مشتركة مضادة للأكسدة producing cooperative antioxidative protective effects (Jain *et al.*, 1994;) أو عن طريق عملها كلواقط للجذور الحرة وتحفيزها على إنتاج وزيادة كفاءة الأنزيمات المضادة لعمليات الأكسدة والمضادة للسميَّة مثل: الجلوتاثيون بيروكسيديز (GPX) والسوبر أكسيد ديسموتيز (SOD) (Zheng and Zheng, 2002).

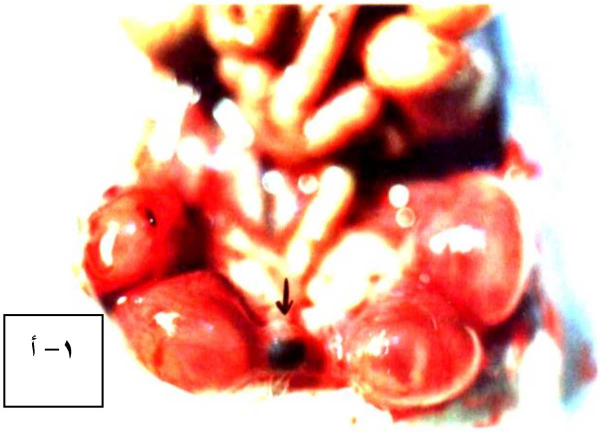
مجموعة من المعادن: أهمها السيلينيوم، الزنك، الحديد، الصوديوم، الكالسيوم والمغنيسيوم الموجودة طبيعيًّا في الأغذية المختلفة والتي أثبتت الأبحاث السابقة أنّ المعدلات الطبيعية لهذه المواد في الغذاء لها تأثيرات وقائية متعددة، قدرةٌ مضادة للسرطان وقوة مضادة للطفرات الناجمة من التأثيرات المطفرة نتيجة المعاملة بالمركبات الكيميائية المختلفة (Biswas *et al.*, 1999; Bronzetti *et al.*, 2000 & 2001; Hassan *et al.*, 2006). وكذلك العوامل المقلونة وعقار السيسبلاتين قيد الدراسة (Antunes *et al.*, 2000a). وقد أعزت الدراسات السابقة التأثيرات الوقائية المضادة للتسرطن والمضادة للطفور لهذه المواد في كبحها وحمايتها للخلايا الطبيعية من التحوّل إلى خلايا ورميّة وذلك عن طريق عملها:

-كلواقط للجذور الحرة من خلال تحفيزها لنشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل: الكتاليز (CAT) catalase وأنزيمات الجلوتاثيون بيروكسيديز المعروفة بقدرتها على حماية جزيء DNA والمكونات الخلوية الأخرى من التلف الذي يمكن أن تحدثه جذور الأكسجين الحرة (Schrauzer, 2000; Yu *et al.*, 2001; Bronzetti *et al.*, 2000 & 2003) .

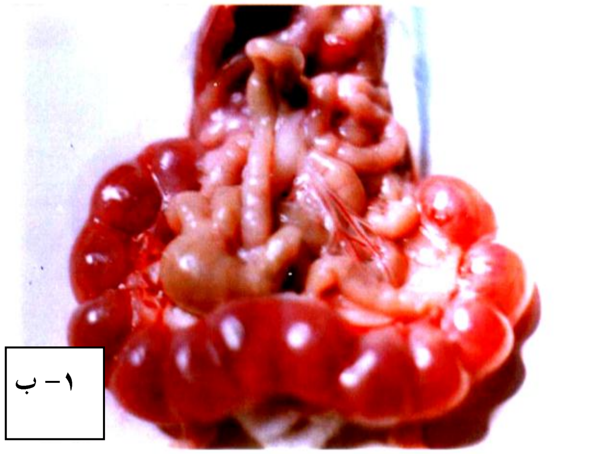
-أو كمحفزات لإنتاج وتصنيع الميتالوثيونين metallothionein (MT) سواءً في الخلايا الثديية المزروعة *in vitro* أو في أنسجة الحيوانات *in vitro*، ومن المعروف أنَّ (MT) له قدرة عالية على التفاعل مع العوامل المقلونة (Endressen and Rugstad, 1987) وقابلية كبيرةً لالتقاط الجذور الحرة (Abel and Riuter, 1989)، وبهذا فإنّ الإنتاج المسبق للميتالوثيونين داخل الأنسجة يحمي من السّميّة الخلويّة، والسّميّة العضوية أو السميّة المميتة لمختلف العقاقير المضادة للسرطان والتي من ضمنها عقار السيسبلاتين قيد الدراسة (Kaina *et al.*, 1990; Nakagawa *et al.*, 1995).

وبناءً على ذلك فإنّ التفسير المنطقيّ لما يحدثه عقار السيسبلاتين من تأثير سميّ وما لألبان الإبل من إمكانات في الحد من هذه التأثيرات السّميّة يمكن تلخيصها كالتالي:

- يعتبر عقار السيسبلاتين عاملاً مؤكسداً قويّاً؛ حيث يعمل على تخفيض معدلات المواد المضادة للأكسدة وعلى استنفاد الأنزيمات المضادة للأكسدة وخصوصًا الجلوتاثيون (GSH) والميتالوثيونين (MT) في الأنسجة المختلفة، وحيث أنّ هذه المواد معروفة بقدرتها على خفض السميّة الخلوية التي تحدثها المعاملة بالمركبات الكيميائية بما فيها العقاقير وذلك عن طريق عملها كلواقط للجذور الحرة، لذا فإنّ المعاملة بعقار السيسبلاتين سيترتب عليها نقص في ميكانيكية الحماية في الخلايا وزيادة في عمليات الأكسدة التي تكون نتيجتها انطلاق للجذور الحرة المعروفة بقدرتها التدميرية للخلايا ومن ثمّ الأنسجة.
- ولأن من الممكن اعتبار لبن الإبل عاملاً مضادًا للأكسدة، لذا فإنه من المحتمل أنّه يستطيع؛ نظرًا لاحتوائه على مواد مضادة للأكسدة مثل: الفيتامينات ومن أهمها A, B, C والتي تحفز إنتاج وتصنيع أنزيمات الجلوتاثيون، وعلى معادن مختلفة أهمها السيلينيوم، الزنك، الحديد والمغنيسيوم أيضًا والتي لها القدرة على تحفيز تخليق الميتالوثيونين، أن يساعد على زيادة قدرة الخلايا في الأنسجة المختلفة على حماية نفسها ضدّ التدمير الأكسيدي عن طريق محتوياته الطبيعية والتي تعمل جميعها كلواقط للجذور الحرة.

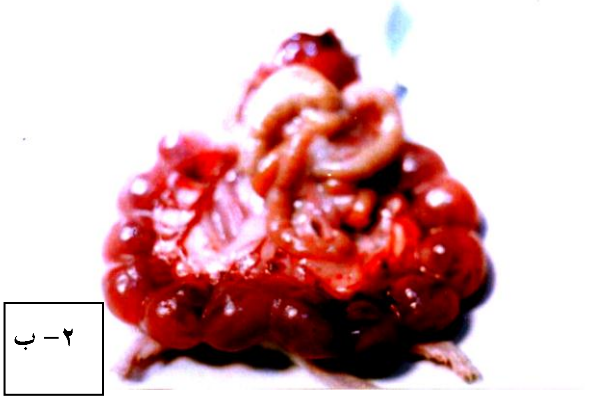


شكل١. أ- صورة فوتوغرافية توضّح مدى انخفاض العدد الكلي للانغمادات خلال الأسبوع الرابع في رحم أنثى لقحت بذكر معامل بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين.

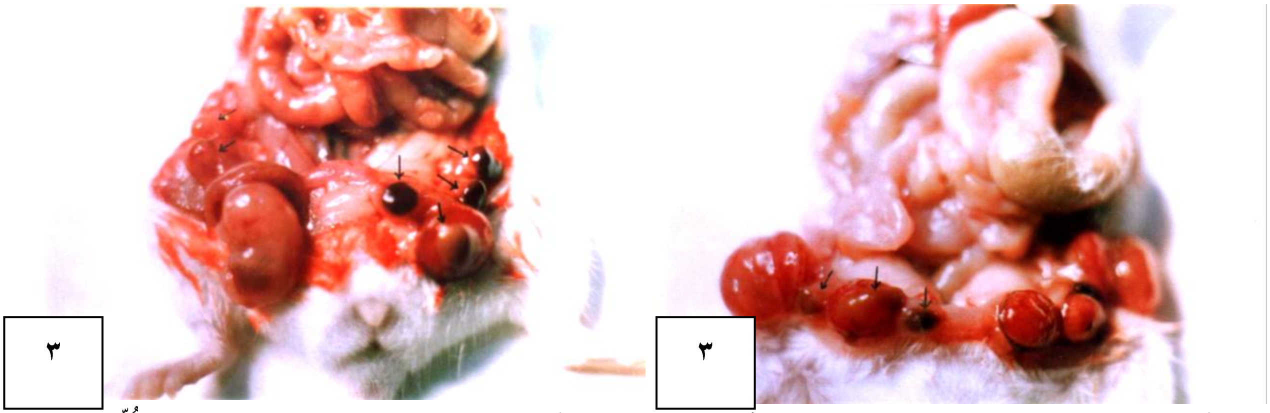


شكل ١. ب- صورة فوتوغرافية توضّح مدى الاستجابة للبن من حيث ارتفاع العدد الكلي للانغمادات- كما هو واضح- خلال الأسبوع الرابع في رحم أنثى لقحت بذكر تمّت معاملته بالجرعة ٠,٥ مجم/ كجم) من اللبن ثم ←المزدوجة والمسبقة (٣٣مل/كجم العقار.

شكل٢. أ- صورة فوتوغرافية توضّح مدى انخفاض العدد الكلي للانغمادات الحيّة خلال الأسبوع الأول وذلك في رحم الأنثى لُقّحت بذكر معامل بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين.



شكل٢. ب- صورة فوتوغرافية توضّح تأثير اللبن في ارتفاع العدد الكلي للانغمادات الحيّة خلال الأسبوع الأول ذلك في رحم أنثى لُقِّحت بذكر تمّت معاملته بالجرعة المزدوجة والمُتزامنة (٣٣مل/ كجم + ٠,٥ مجم/ كجم) من اللبن والعقار.



شكل٣. صورة فوتوغرافية توضّح مدى ارتفاع عدد الأجنّة الميّتة في مرحلة مبكرة ومتأخرة من النمو في رحم اثنتين من الإناث لُقّحت كل منهما في الاسبوع الأول من آخر معاملة بذكر معامل بالجرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين

المـــراجـــع

Abel, J., and Riuter, N. (1989): Inhibition of hydroxy-radical generated DNA degeradation by metallothionein. *Toxicol. Lett., 47: 191-196.*

Adler,I.D., and El-Tarras, A. (1990): Clastogenic effects of cis-diamminedichloro- platinum-II. Induction of chromosomal aberration in primary spermatocytes and spermatogonial stem cells of mice. *Mutat. Res., 243(3):173-178.*

Ames,B.N.(1983): Dietary carcinogens and anticarcinogens.*Science.,221: 1256-1264.*

Anderson, D., Bateman, A. and Mcgregor, D. (1983).. Domianat lethal muthation assays. In: Report of the UKEMS Sub-Committee on Guidelines for Mutagenicity. Testing., 143-164.

Antunes, L. M. G., Araujo, M.C.P., Darin, J. D. C., and Bianchi, M.D.P. (2000b): Effects of the antioxidants curcumin and vitamin C on cisplatin-induced clastogenesis in *Wistar rate* bone marrow cells. Genetic Toxicology and Environmental *Mutagenesis., 465:131-137.*

Antunes, L.M., Francescato,H.D., Darin, J.D., De-Lourdes, P., and Bianchi, M. (2000a): Effects of selenium pretreatment on cisplatin-induced chromosome aberrations in *Wister* rats . *Teratog. Carcinog. Mutagen., 20(6):341-348.*

Azevedo, L., Gomes, J.C., Stringheta, P.C., Gonitjo, A.M., Padovani, C.R., Ribeiro, L.R., and salvadori, D.M.(2003): Blak bean (Phaseolus vulgates L.) as a protective agent against DNA damage in mice. *Food. Chem. Toxicol., 41 (12): 1671 – 1676 .*

Biswas, S.,Talukder, G., AND Sharma, A. (1999): Comparison of clastogenic effects of inorganic selenium salt mice *in vivo* as related to concentrations and duration of exposure. *Biometals., 12 (4) : 361 – 368 .*

Bronzetti, G., Aretini, p., Ambrosini, C., Cini, M., Fiorio, R., Caltavuturo, L., Croce, C.D., and Panunzio, M. (2000) : Antimutagenesis studies of magnesium and calcium salts. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 19 (4) : 401 – 413.*

Bronzetti,G., Cini, M., and Reoli, E., Caltavuturo, L., Panunzio, M., and Croce, C.D (2001): Protective effects of vitamins and selenium compounds in yeast. *Mutat. Res., 496(1-2): 105-115.*

Bronzetti, G., Cini, M., Caltavuyvro, L., Fiorio, R., and Croe, C,D. (2003): Antimutagenicity of sodium selenite in *chinese* hamster v79 exposed to azoxymethane, methylmethansulphonate and hydrogen peroxide. *Mutat. Res., 523 –524 : 21 – 31.*

Chabner, B.A., Amrein, P.C. and Druker, B.J. (2006).. In Chemotherapy of neoplastic diseases. (Brunton, L.L.,Lazo,J.S and Parker,K.L. (Eds|) eleventh edition) McGraw Hill. 1315-1402.

Choudhury, R. C., Jagdale, M. B., Misra, S. (2000): Effects of cisplatine in the male germ line cells of Swiss mice. J. Chemother., 12(4): 352- 359.

Clarke, C.H,. and Shankel ,D.M.(1975): Antimutagenesis in microbial systems. *Bactericol. Rev., 39:33-53.*

Ehling, U.H., Machemer, L., Buselmaier, W., Dycka, J., Frohberg, H., kratochvilova, J., Lang, R., Lorke, D.*et al. (1978)*: Standared protocol for the dominant lethal test on male mice. Arch. Toxicol., 39: 137- 185.

Ehling ,U.H. (1994): Dominant mutation in mice. *In Mattison , D . R. and Olshan, A.F.(eds), Male – mediated Developmental Toxicology .plenum .Press, New York, N.Y, P.P:*

Endressen, L., and Rugstad, H.E. (1987): Protective function of metallothionein against certain anticancer agents. *Experientia Supplementum., 52: 595-602.*

Gebhart, E., Windolph, B., and Wopfner, F. (1980): Chromosomes studies on lymphocytes of patients under cytostatic therapy. II. Studies using the BUDR-labelling technique in cytostatic therapy. *Human Genet., 56: 157-167.*

Kuroda, Y., Jain, A. K ,Tezuka, H., and Kada,T.(1992) : Antimutagenicity in cultures mammalian cells.*Mutat Res.,267:201-209.*

Lantzsch, H., and Gebel, T. (1997): Genotoxicity of selected metal compounds in the SOS chromotest. *Mutat. Res., 389 (2-3): 191- 197.*

Nakagawa, I., Nishi, E., Naganuma, A., and Imvra, N. (1995): Effect of preinduction of metallothionein synthesis on clastogenicity of anticancer drugs in mice. *Mutat. Res., 348: 37- 43.*

Nefic, H. (2001): Anticlastogenic effect of vitamin C on cisplatin induced chromosome aberration in human lymphocyte cultures. *Mutat.Res.,498(1-2):89-98.*

Oesch, F. (1988): Antimutagenesis by shift in monooxygenase isoenzyme and induction of iboxide hydrolase.*Mutat.Res.,202: (335-342).*

Overbeck, T. L., Knight, J. M., and Beck, D. J. (1996): Acomparison of the genotoxic effects of carboplatin and cisplatin in *Escherichia coli. Mutat . Res., 362 : 249 - 259.*

Paget, G. E., and Barnes, J. M. (1964): Evalution of drug activities and pharmacokinetics. academic press, I: 135-136.

Renner, H.W.(1984): Antimutagenic effect of an antioxidant in mammals. *Mutat Res., 139:125-129.*

Schrauzer , G . N.(2000): Anticarcinogenic effects of selenium . *Cell . Mol . Life . Sci , 57 (13-14) :1864-1873.*

Seethalakshmi, L., Flores, C., Kin Kead, T., Carboni, A. A., Mahotra, R. K., and Menon, M. (1992): Effects of subchronic treatment with cis-platinum on testicular function, fertility pregnancy outcome, and progeny. *J. Androl., 13(1): 65-74.*

Shelby, M.D., Bishop, J.B., Mason, J.M., and Tindell, K.R. (1993): Fertility reproduction and genetic disease:studies on the reproductive effects of environmental agents on mammalian germ cells. *Environ. health. perspect., 100:283-291.*

Singh, A.C., Kumar, M., and Jha, A.M. (2003): Genotoxicity of lomefloacin_ an antibacterial drug in somatic and germ cells of *swiss albino* mice *in vivo . Mutat. Res., 535 (1) : 35 – 42. Environ.health.perspect.,100:283-291.*

Yu, J. W., Yoon, S. S., and Yang, R.(2001): Iron chlorine e6 scavenges hydroxyl radical and protects human endothelial cells against hydrogen peroxide toxicity.*biol. Pharm.bull.,24(9):1053-1059.*

Zhao, Z.Z., and Huang, M.T.(1992): A study of vitamin inhibition on mutagenicity of the antineoplastic drugs.*zhonghua.yu.fang.yi. Xue.za.zhi., 26(5): 291-293.*

Zheng, Q. S., and Zheng, R. L. (2002): Effects of ascorbic acid and sodium selenite on growth and redifferentiation in human hepatoma cells and its mechanisms. *Pharmazie., 57(4):265-269*

Giri, A., khynriam, D., and Prasad, S.B.(1998): vitamin c mediated protection on cisplatin-induced mutagenicity in mice. *Mutat. Res., 421(2): 139-148.*

Hartman, P. E., and Shankel, D. M.(1990): Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. *Environ. Mol. Mutagen., 15:145-182.*

Haseman, J. K. and Soares, E. R. (1976): The distribution of fetal death in control mice and its implications on statistical tests for dominant lethal effects. Mut. Res., 41: 277- 288.

Hassan, N.H., Fahmy, M. A., Farghaly, A.A., and Hassan, E.E. (2006): Anti-mutagenic effect of selenium and vitamins against the genotoxicity by cobalt chloride in mice. cytologia 71, 213- 222.

Hayatsu, H., Negishi,T., Arimoto,S., and Hayatus, T. (1993): Porphyrins as potentialagainst exposure to carcinogens and mutagens. *Mutat. Res., 290: 79-85.*

Hertog, M. G., Hollman, P. C., Katan, M. B., and Kromhout, D. (1993): Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands.*Nutr.cancer.,20:21-29.*

Hongyu, Y., and Zili, Z. (1992): Some factors affecting sister chomatid differentiation (SCD) and sister chromatid exchanges (SCEs) in *Hordeum vulgare . Mutat. Res.,272:125-131.*

Jain, A., Martensson., J., Mehta, T., Krauss, A. N., Auld, P.A., and Meister, A. (1994): Ascorbic acid perevents oxidation stress in glutathione deficient mice: affection lung type –2 cellamellar bodies, lung surfactant and skeletal muscle. *proc. Natt. Acad. Sci. U.S.A., 98: 5093-5097.*

James, D.A., and Smith, D. M. (1982): Analysis of results from a collaborative study of the dominant lethal assay. *Mutat. Res., 97: 303-314.*

Jha, A. M., and Bharti, M. K. (2002) : Mutagenic profiles of carbazole in the male germ cells of *Swiss albino* mice. *Mutat. Res., 500 (1-2) : 97 – 101 .*

Kaina, B., Lohrer, H., Karin, M., and Herrlich, P. (1990): Overexpressed human metallothionein IIA gene protects *Chinese hamster* ovary cells from killing by alkylating agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA ., 87: 2710-2714.*

Khaidakov, M., Bishop, M. E., Manjanatha, M. G., Lyncook, L.E., Desai, V.G., Chen, J. J., and Aidoo, A. (2001): Influence of dietary antioxidants on the mutagenicity of 7,12-dimethylbenz[a] anthracene and bleomycin in female rats . *Mutat . Res .,48-481:163-170.*

Kinkead, T., Flores, C., Carboni, A.A., Menon, M., and Seethalakshmi, L . (1992) : Short Term effects of cis-platinum on male reproduction fertility and pregnancy outcome. *J. Urol., 147(1): 201-206.*

Kirk, K. M. and Lyon, M.F. (1984): Induction of congenital malformations in the offspring of male mice tread with x-ray at permeiotic and post-meiotic stages. Mut. Res., 125: 75- 85.

SUMMARY

Antimutagenic Effect of Camil Milk Using Dominant Lethal Mutation Assay in Mice

Salwa Mohammad Quita and Lina AbdulFattah Kurdi

During recent years, considerable effort have been focused on using antimutagens to modulate the genotoxic effects of the mutagenic antineoplastic drugs. Therefore, much attention has been paid to the research of naturally occurring agents (especially in diet) that are able to stimulate defense mechanisms of the organism.

Therefore, the aim of the present study is to evaluate the possible protective (antimutagenic) role of Camel milk against the genotoxic effects of a widely used antineoplastic drug “cisplatin” in gametic cells of male mice *in vivo*.

The 50 adult male Swiss albino mice were divided into five groups:

Gr. I: treated with distilled water and considered as control group.

Gr. II: treated with camel milk (33ml/kg, b.wt.).

Gr. III: treated previously with cisplatin (0.5mg/kg, b.wt.).

Gr. IV: treated with camel milk and followed after 2h. with cisplatin (33ml/kg 0.5mg/kg, b.wt.).

Gr. V: treated with camel milk and cisplatin at the same time (33ml/kg + 0.5mg/kg, b.wt.).

The analysis of data obtained from the dominant lethal assay revealed that the drug was highly effective in inducing dominant lethality after treatment with cisplatin, especially in the first, second and fifth weeks. This implies that the spermatozoa, late spermatid and primary spermatocytes were the most sensitive and highly affected stages by this treatment.

On the other hand, pre & simultaneous treatments with camel milk treatment with cisplatin showed a noticeable decrease in the dominant lethal values in the same stages affected by cisplatin treatment only. It is obviously that the pre- treatment with camel milk and followed by the drug was the more effective treatment in reducing the dominant lethal values than that of the simultaneous treatment observed in the majority of examined weeks. This protective effect of camel milk could be attributed to the scavenging ability to trap free radicals of some of its components like vitamins and minerals. or it has some antioxidant effect.