جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـة كربـلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة- قسم علوم الحياة

تأثير المستخلص الايثانولي لجذور نبات عرق السوس في مستوى انزيمات الكبد وبعض المعايير النسجية والهرمونية والوراثية لذكور الجرذ الأبيض المعاملة بعقار المايتومايسين- سي

رسالة تقدمت بها
الطالبة

دعاء عبد الكريم حمزة

بكالوريوس علوم الحياة / جامعة كربلاء 2012

إلى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة كربلاء وهي جزء
من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة / الحيوان

باشراف
أ.د ستار جاسم حتروش

جمادي الاخر 1435 هـ   نيسان 2015 م

بسم الله الرحمن الرحيم

سُبْحَانَكَ لا عِلْمَ لَنَا
إلاَّ مَا عَلَّمْتَنَا إنَّكَ
أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

صدق الله العظيم

سورة البقرة/ آية **32**

الإهـداء

إلى ...

وطني الغالي العراق

إلى ...

من غرسا في صدري الصبر والأمل نحو المستقبل

والدي ووالدتي

الى من يشد بهم ازري ،ويتسع لهم صدري عوني وسندي

أخوتي واخواتي

اهدي جهدي العلمي المتواضع

دعاء

شكر وتقدير

الحمد لله الذي أزهر القلوب بدعائه, وأينع براعم الإيمان بندائه, و أوسق ثمار العقيدة بمناجاته و هدانا بما أنزل من صحفه و رسالاته فدعانا في محكم كتابه لدعائه و جعله مفتاح الباب بينه و بين عبيده و إمائه و الصلاة والسلام على أشرف من دعاه من خلائقه و بريته أبي القاسم محمد صلى الله عليه وآله ومدينة علمه وحكمته وعيبة كلماته, و على أهل بيت نبيه, كلماته وأبوابه وحملة فرقانه, أهل ولائهِ وولايته.

أما بعد.. يسعدني أن أتقدم بجزيل الشكرو وافر الامتنان للأستاذ الفاضل دكتور ستار جاسم حتروش لاقتراحه موضوع البحث ومتابعته واغنائه بالتوصيات والإرشادات السديدة خلال مدة البحث وكتابة الرسالة واسال الله القدير أن يمده بالصحة والعافية .
وأتقدم بالشكر للدكتور عبد الامير من كلية التربية للعلوم الصرفة- قسم علوم الحياة ، كما أتوجه بشكر جزيل وامتنان عميق الى الدكتور الفاضل مازن حامد الربيعي من كلية الصيدلة والدكتور علي رحيم (مستشفى الحسين – كربلاء) لما قدموه من عون وارشاد علمي ،كما لا أنسى ذلك المكان الذي ترك في نفسي الأثر الكبير في فتح أفاق العلم والمعرفة (مركز الابحاث السرطانية في بغداد) لمساعدتهم لي خلال مدةالبحث.

واخيرا الى الاكف البيضاء التي طالما دفعتني للسير قدما في طريق العلم ...أبي وأمي , إلى من كانوا سندي في الحياة اقدم وافر محبتي واعتزازي ....عائلتي .

الباحثة

الخلاصــة

أجريت الدراسة في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة في كليــة التربيــة للعلوم الصرفة- جامعـة كربــلاء للمدّة من شهركانون اول 2013 ولغاية شهر شباط 2015 لمعرفة تأثير المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس *Glycyrrhiza glabra* على مستوى انزيمات الكبد وبعض المعايير الهرمونية والنسجية فضلاً عن إختبارات التحليلات الوراثية الخلوية لذكور الجرذ الابيض المعاملة بعقار المايتومايسين – سي ,حيث استخدمت 75 ذكراً من الجرذان البيضاء وقسمت عشوائيا إلى خمس مجاميع (15 حيوان لكل مجموعة) المجموعة الأولى السيطرة السالبة جرعت يوميا بالماء والعليقة لمدة شهر،المجموعة الثانية السيطرة الموجبة جرعت فمويا بعقار المايتومايسين – سي بتركيز2ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة شهر ، المجموعة الثالثة جرعت فمويا بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500 ملغم/ كغم من وزن الجسم قبل المطفر باسبوعين ولمدة شهر،المجموعة الرابعة جرعت فمويا بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500 ملغم/ كغم من وزن الجسم مع المطفر في آن واحد ولمدة شهر ،المجموعة الخامسة جرعت فمويا بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500 ملغم/ كغم من وزن الجسم بعد المطفر باسبوعين ولمدة شهر ،ثم تمت التضحية بالحيوانات وسحب الدم منها لغرض ملاحظة التأثيرات المرضية الحاصلة في المعايير المدروسة ,حيث تم قياس الهرمونات وهي Thyroxine hormone(T4)، Triiodothyronine hormone(T3)،Testerone hormone(T) وLeutinizing hormone(LH) أظهرت النتائج حدوث إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في الهرمونات (T3,T4,LH) بينما لم تظهرفروقات معنوية في هرمون الشحمون الخصوي لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة أما بالنسبة لمستوى انزيمات الكبد Aspartate transferase(AST) transferase(ALT),Alkaline phosphate(ALP) فقد ظهر حدوث إرتفاع معنوي ($P< 0.05$) في كل من انزيمي AST,ALP بينما اظهرت النتائج حدوث إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في انزيم ALT لمجموعة السيطرة الموجبة مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة, أما التغيرات النسجية المرضية لنسيج الكبد تضمنت حدوث احتقان للاوعية الدموية مع تنخرفي الخلايا الكبدية و إرتشاح للخلايا الألتهابية كما تضمنت التأثيرات النسجية في الكلى حدوث نزف دموي في النسيج الخلالي لمنطقتي اللب والقشرة فضلاً عن حدوث تنخر في خلايا اللمة الشعرية للكبيبات الكلوية , أما بالنسبة للأختبارات الوراثية الخلوية المتمثلة بأختبار معامل الانقسام Mitotic Index (MI) ,التشوهات الكروموسومية (CA) Chromosoml aberrations في خلايا نقي العظم وإختبار التشوه في النطف Sperm abnormality (SA) فقد أوضحت النتائج حدوث إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في MI وبمعدل 1.02 مقارنة

بالسيطرة السالبة 3.4 كذلك أدت المعاملة بالعقار الى حدوث إرتفاع معنوي (P< 0.05) في كل من التشوهات الكروموسومية والتشوهات في رؤوس النطف وبمعدل (35.13 , 620.26) على التوالي مقارنة بالسيطرة السالبة (154.78,3.62).

أما عند اجراء التداخل ما بين المستخلص النباتي بتركيز 500 ملغم/كغم وعقار المايتومايسين – سي (MMC) بتركيز 2ملغم/كغم وبشكل ثلاث معاملات وهي المعاملة بالمستخلص (قبل ,مع, بعد) المطفرلاختبار فعالية المستخلص في تقليل تأثير العقار في المعايير المدروسة , فأظهرت نتائج قياس مستوى الهرمونات حدوث إنخفاض معنوي (P< 0.05) في مستوى T,T4,LHعند المعاملة بالمستخلص (بعد) المطفرولم تظهر فروقات معنوية في مستوى T3 مقارنة بالسيطرة الموجبة أما عند المعاملة بالمستخلص (مع) المطفر فقد أدت الى حدوث إرتفاع معنوي (P< 0.05) في هرمو T3ولم تظهر فروقات معنوية في مستوى(T,T4,LH)مقارنة بالسيطرة الموجبة بينما المعاملة بالمستخلص (قبل) المطفر فقد سجلت حدوث إنخفاض معنوي (P< 0.05) في هرمو T4وارتفاع معنوي في هرمو LHولم تظهر فروقات معنوية في مستوى T3,T مقارنة بالسيطرة الموجبة، أما بالنسبة لانزيمات الكبد فقد ظهر حدوث إنخفاض معنوي (P< 0.05) في إنزيم AST بينما سجلت النتائج إنخفاض معنوي (P< 0.05) في إنزيمي ALT, ALPللمعاملة (مع،بعد) المطفرولم تظهر فروقات معنوية في انزيمي ALT,ALPللمعاملة قبل المطفرمقارنة بالسيطرة الموجبة, أما الدراسة الوراثية الخلوية فقد بينت نتائج MI إ معاملة التداخل بالمستخلص (مع , بعد) المطفر كانت الافضل في رفع معدل MI الى 6.98, 42.56على التوالي مقارنة بالسيطرة الموجبة 1.02 أما المعاملة بالمستخلص (قبل) المطفرفقد أدت الى رفع معدل MI الى4.44 مقارنة بالسيطرة الموجبة , كما بينت نتائج التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي العظم للجرذ حدوث إنخفاض في معدل التشوهات للمعاملات (قبل,مع,بعد)المطفر بنسبة (18.09 , 32.05,23.36) وبفرق معنوي عن السيطرة الموجبة 35.83 وكانت المعاملة بالمستخلص بعد هي الافضل , أما بالنسبة لنتائج التشوهات في رؤوس النطف فقد أظهرت حدوث إنخفاض في معدل التشوهات بنسبة (508.31,458.30,576.78) عند المعاملة بالمستخلص (قبل,مع,بعد) المطفر عن السيطرة الموجبة 620.29 وكانت المعاملة بالمستخلص مع المطفر هي الافضل في خفض معدل التشوهات في رؤوس النطف , أما اختبارالتغييرات النسجية فقد أظهرت نتائج الفحص المجهري لنسيج الكبد والكلى لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص النباتي (بعد،قبل) المطفر تحسنا بالاضافة الى تقليل التاثيرات النسجية المرضية في كلا النسيجين.

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1.2	جذورنبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra*.	4
1.4	كروموسوم حلقي في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. .(قوة التكبير100X،صبغة كمزا)	47
2.4	كسر كروماتيدي في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. (قوة التكبير100X،صبغة كمزا)	47
3.4	كسر كروموسومي في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. .(قوة التكبير100X،صبغة كمزا)	48
4.4	فرط المجموعة الكروموسومية في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. .(قوة التكبير100X،صبغة كمزا)	48
5.4	التشوهات في نطف ذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس (قوة التكبير40X،صبغة ازرق المثيلين)	53
6.4	مقطع مستعرض لكبد جرذ طبيعي (200X صبغة H&E) يوضح : A-الوريد المركزي. B-حبال الخلايا الكبدية.	55
7.4	مقطع مستعرض لكلية جرذ طبيعي (200X صبغة H&E) يوضح :- A-الكبيبات الكلوية B-النبيبات الكلوية C- فسحة بومان	56

8.4	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمايتومايسين(200X صبغة H&E) يوضح A- احتقان دموي في الوريد المركزي B- تنخر في الخلايا الكبدية من نوع التنخر التجلطي.	56
9.4	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس مع المطفر(200X صبغة H&E) يشير السهم الى وجود احتقان دموي في الاوعية الدموية للوريد المركزي.	57
10.4	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعاملبالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس قبل المطفر (200X صبغة H&E) يوضح :- A- ارتشاح للخلايا الالتهابية B- تنخر في بعض الخلايا الكبدية	57
11.4	مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعاملة بالمايتومايسين (200X صبغة H&E) يوضح :- A- احتقان دموي في الشريان الكلوي B- وجود ارتشاح للخلايا الالتهابية	58
12.4	مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس مع المطفر(200X صبغة H&E) يوضح :- A-احتقان دموي في الاوعية الدموية B- وجود تغيرات تنكسية (التورم الغيمي)	58
13.4	مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس بعد المطفر(200X صبغة H&E) يشير السهم الى وجود تغيرات تنكسية متمثلة بكبر حجم الخلايا المبطنة للنبيب الكلوي.	59
14.4	مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس بعد المطفر(200X صبغة H&E) A- وجود احتقان دموي في الاوعية الدموية B- ارتشاح للخلايا الالتهابية من نوع العدلة	59
15.4	مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعاملة بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس قبل المطفر(200X صبغة H&E) يشير السهم الى وجود احتقان دموي في الاوعية الدموية .	60

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	**I**
	قائمة المحتويات	**IV**
	قائمة الجداول	**IX**
	قائمة الاشكال	**X**
	قائمة المختصرات	**XII**
	الفصل الأول :المقدمة	1
	الفصل الثاني:أستعراض المراجع	
1.2	النبات المستعمل في الدراسة	3
1.1.2	نبات عرق السوس *(Glycyrrhiza glabra)*	3
2.1.2	تصنيف النبات	3
3.1.2	الاسماء الشائعة	3
4.1.2	الموطن الاصلي للنبات	3
5.1.2	انواع النبات	3
6.1.2	وصف النبات	4
7.1.2	التركيب الكيميائي	5
8.1.2	الاهمية الطبية للنبات	6
9.1.2	التاثيرات المضادة للالتهاب	6
10.1.2	التاثيرات المضادة للاكسدة	8
11.1.2	التاثيرات المضادة للسرطان	10
12.1.2	التاثيرات المشابهة لفعل هرمون المودق	12
13.1.2	التاثيرات الجانبية لعرق السوس	12

14	عقار المايتومايسين- سي (Mitomycine-c)	**2.2**
15	التحليلات الوراثية الخلوية(Cytogenetic analysis)	**3.2**
15	اختبار معامل الانقسام (Mitotic index assay)	**1.3.2**
16	اختبار التشوهات في رؤوس النطفSperms head abnormality assay	**2.3.2**
17	اختبار التشوهات الكروموسومية(Chromosomal aberration assay)	**3.3.2**
الفصل الثالث :مواد وطرائق العمل		
21	المواد	**1.3**
21	المواد الكيميائية المستعملة في التجربة	**1.1.3**
22	الاجهزة والمستلزمات المستعملة في التجربة	**2.1.3**
23	طرائق العمل	**2.3**
23	الحيوانات المستخدمة في التجربة	**1.2.3**
23	تحديد الجرعة المناسبة للمطفر	**2.2.3**
23	تحضير المستخلص الكحولي للنبات	**3.2.3**
23	تصميم التجربة	**4.2.3**
24	الكشوفات الكيميائية	**5.2.3**
24	الكشف عن الكاربوهيدرات	**1.5.2.3**
25	الكشف عن الفلافونيدات	**2.5.2.3**
25	الكشف عن الكومارينات	**3.5.2.3**
25	الكشف عن القلويدات	**4.5.2.3**
25	الكشف عن الصابونيات	**5.5.2.3**
26	الكشف عن التانينات	**6.5.2.3**
26	الكشف عن التربينات والسترولات	**7.5.2.3**
26	الكشف عن الراتنجات	**8.5.2.3**
26	الكشف عن الزيوت الطيارة	**9.5.2.3**

6.2.3	تحضير المحاليل	26
1.6.2.3	محلول داري الفوسفات الفسلجي	26
2.6.2.3	المحلول المثبت	26
3.6.2.3	محلول واطىء الشدة كلوريد البوتاسيوم	26
4.6.2.3	محلول الكولجسين	27
5.6.2.3	داري سورنسن	27
6.6.2.3	محلول ملون ازرق المثلين	27
7.6.2.3	محلول ملون كمزا	27
3.3	جمع عينات الدم	29
4.3	جمع عينات الكبد والكلية	29
5.3	الدراسة الفسلجية	29
1.5.3	قياس مستوى انزيمات الكبد	29
1.2.5.3	تقدير فعالية الانزيمين(AST)و(ALT) في مصل الدم	29
2.2.5.3	تقدير فعالية الانزيم (ALP) في مصل الدم	31
2.5.3	قياس مستوى بعض الهرمونات	32
7.3	الدراسة الوراثية الخلوية	33
1.7.3	تحضير كروموسومات خلايا نقي العظم	33
2.7.3	تحضير الخلايا الجنسية النطف لذكور الجرذان	34
8.3	الدراسة النسجية	34
9.3	التحليل الاحصائي	36
	النتائج	
1.4	الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة للمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس	37
2.4	التغيرات العيانية والمظهرية في ذكور الجرذ الابيض	38

3.4	التغيرات الوزنية	38
1.3.4	التغيرات في وزن الجسم الكلي	38
2.3.4	التغيرات الوزنية في اوزان الكبد	39
3.3.4	التغيرات الوزنية في اوزان الكلى	39
4.4	الدراسة الفسلجية	41
1.4.4	التغيرات في مستوى انزيمات الكبد لذكور الجرذ الابيض	41
1.1.4.4	التغيرات في مستوى الانزيم الناقل لمجموعة الامين(AST)	41
2.1.4.4	التغيرات في مستوى الانزيم الناقل لمجموعة الامين (ALT)	41
3.1.4.4	التغيرات في مستوى انزيم الفوسفاتيز القاعدي (ALP)	41
2.4.4	التغيرات في مستوى بعض الهرمونات لذكور الجرذ الابيض	43
1.2.4.4	التغيرات في مستوى هرمون الشحمون الخصوي(T)	43
2.2.4.4	التغيرات في مستوى هرمون ثلاثي يوديد الثايرونين(T3)	43
3.2.4.4	التغيرات في مستوى هرمون الثايروكسين(T4)	43
4.2.4.4	التغيرات في مستوى الهرمون اللوتيني(LH)	43
5.4	الدراسة الوراثية الخلوية	45
1.5.4	دراسة التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي عظم الجرذ	45
1.1.5.4	تأثير التداخل بين المستخلص النباتي والمطفر في متوسط التشوهات الكروموسومية لخلايا نفي عظم الجرذ	45
2.5.4	دراسة معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ	49
1.2.5.4	تأثير التداخل بين المستخلص النباتي والمطفر في متوسط معامل الانقسام لخلايا نفي عظم الجرذ	49
3.5.4	دراسة التشوهات في رؤوس النطف	51
1.3.5.4	تأثير التداخل بين المستخلص النباتي والمطفر في متوسط التشوهات للنطف	51
6.4	الدراسة النسجية	54

54	مجموعة السيطرة للكبد	1.6.4
54	مجموعة السيطرة للكلى	2.6.4
54	التأثيرات النسجية- المرضية	3.6.4
	الفصل الخامس :المناقشة	
61	الكشف الكيميائي للمركبات الفعالة للمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس	1.5
61	التغيرات الوزنية	2.5
61	التغيرات الوزنية في وزن الجسم الكلي	1.2.5
62	التغيرات في أوزان الكبد	2.2.5
62	التغيرات في أوزان الكلى	3.2.5
63	الدراسة الفسلجية	3.5
63	قياس مستوى انزيمات الكبد(AST,ALT,ALP)لذكور الجرذ الابيض	1.3.5
65	قياس مستوى بعض الهرمونات (LH,T3,T4,TE) لذكور الجرذ الابيض	2.3.5
66	الدراسة الوراثية الخلوية	4.5
66	دراسة التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي عظم الجرذ	1.4.5
69	دراسة معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ	2.4.5
71	دراسة التشوهات في رؤوس النطف	3.4.5
72	دراسة التغيرات النسجبة المرضية	5.5
75	**الأستنتاجات**	
76	**التوصيات**	

77	**المصادر العربية**
80	**المصادر الانكليزية**
I	**الخلاصة باللغة الانكليزية**

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
37	الكشوفات الكيميائية للمستخلص الكحولي لجذور نبات عرق السوس.	**1.4**
39	تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على وزن الجسم لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات	**2.4**
40	تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على وزن الكبد والكلية لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات	**3.4**
42	تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على انزيمات الكبد لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات	**4.4**
44	تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على مستوى بعض الهرمونات لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات	**5.4**
46	متوسط التشوهات الكورموسومية في نقي العظم لجذكور الجرذ الابيض المعاملة بعقار المايتومايسين بجرعة 2 ملغم/كغم من المستخلص النباتي في ثلاثة تداخلات	**6.4**
50	متوسط معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ الابيض المعاملة بجرعة 2 ملغم/كغم من عقار المايتومايسين وجرعة 500 ملغم/كغم من المستخلص النباتي للتداخلات الثلاثة.	**7.4**
52	متوسط التشوهات في نطف ذكور الجرذ الابيض المعاملة بجرعة 2 ملغم/كغم من عقار المايتومايسين مع جرعة 500 ملغم/كغم من المستخلص النباتي في ثلاثة تداخلات.	**8.4**

قائمة المختصرات

المصطلح	المختصر
Alkaline phosphatase	ALP
Alanine Transaminase	ALT
Aspartate Transaminase	AST
Alkaline phosphatase	ALP
Reactive Oxygen Species	ROS
Leutinizing hormone	LH
Triiodothyronine	T3
Thyroxine	T4
Testerone	Te
Mitotic Index	MI
Chromosomal Abberation	CA
The first gap of the cell cycle	G1
Mitomycine- C	MMC

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

استعملت النباتات الطبية ومستخلصاتها منذ القدم وكانت اقدم الشعوب يستعملونها في التداوي لمختلف الامراض التي كانت تصيبهم لذا ازداد الاهتمام باستعمال النباتات والاعشاب الطبية سواء باستعمالها مباشرة دون اي معاملة مثلما كانت تستعمل سابقا او بفصل المركبات الفعالة طبيا منها ومن ثم استعمالها في علاج العديد من الامراض اذ تشكل النباتات مصدرا مهما للمركبات التي تدخل في تحضير العقاقير الطبية المختلفةوتكمن اهميتها في انها لا تحتوي في الغالب على مواد ذات تاثير جانبي ضار فقد ثبت ان العديد من العقاقير الطبية ذات المصدر الكيميائي لها تاثيرات جانبية خطيرة لذا اتجه العلماء والباحثون في مختلف انحاء العالم الى دراسة النباتات الطبية ومعرفة تاثيراتها وفوائدها الدوائية وذلك لاهميتها الكبيرة من الناحيتين العلمية والاقتصادية (الجبوري والراوي,1993).

ان كل عشبة هي بالاصل صيدلية متكاملة تنوعت مكوناتها بنسب وضعها الله سبحانه وتعالى بحكمته وتقديره، ومن هذه الاعشاب عشبة عرق السوس (Glycyrrhiza glabra) التي تستخدم في معالجة الكثير من الامراض حيث ان جذور عرق السوس هي المصدر الرئيسي التجاري المهم للعقاقير و الادوية لاحتوائها على المواد الفعالة (Glycyrrhiza) تشتق من الكلمة اليونانية glykos بمعنى sweet (حلو) و rhiza بمعنى root(جذر) اي الجذر الحلو (Ploeger *etal*., 2001) .

بينت دراسة في اليابان ان هذه المادة فعالة في معالجة التهاب الكبد المزمن وتشمع الكبد حيث وجد ان نسبة 75% من المرضى المصابين بفشل الكبد قد ارتفع نشاط الكبد لديهم بعد استخدام جرعة بمقدار 240 mg يوميا لمدة شهر واحد فقط (Fujioka *etal.,2003*) وقد لوحظ ان للعشبة دورا فعالا في تنشيط نظام Renin – angiotensin - aldosterone حيث يعتقد ان المواد الصابونية الموجودة في عشبة عرق السوس تنشط فعالية ال aldosteron من خلال ارتباطها بمستقبلات القشرة المعدنية في الكلى (Kamej *etal*.,2003).

بينت دراسة استخدام عرق السوس في علاج الاصابات البكتيرية و الفيروسية و الفطرية وان لبعض المركبات المشتقة منه اهمية كبيرة في معالجة بعض الامراض السرطانية اذ يعمل مركب Glabridin كمضاد لانقسام خلايا الثدي خارج الجسم الحي بالاضافة الى استخدامه في علاج قرحة الجهاز الهضمي حيث يعمل على زيادة افراز الغدد المخاطية للجهاز التي تساعد في معالجة القرحة (Foster ,2000;Tamir *etal*.,2000) وقد اثبتت البحوث امتلاك النبات فعالية مضادة للاكسدة anti-oxidant وفعالية مضادة للتطفير وقد اقترح عدد من الباحثين اهمية المستخلص المائي لنبات السوس في تثبيط

فعل الكثيرمن المطفرات والمسرطنات الكيميائية مثل teleocidin وغيرها(Nishino *etal*,1984;Mu-Zheng *etal*,1990) اما الخياط (1999) التي وجدت ان للمستخلص المائي لنبات السوس كفاءة تثبيطية تجاه المطفر المايتومايسين- سي على مستوى ثلاثة انظمة حياتية.

يتعرض الانسان في حياته الى العديد من المواد الكيميائية ذات التاثير المطفر و المسرطن وتختلف شدة التعرض الحاد وشبه الحاد والتعرض المزمن تشمل هذه المواد الكيميائية الغذاء ، اثناء التعرض المهني،المبيدات ، السموم الفطرية كالافلاتوكسين و الادوية ومن هذه الادوية التي تستعمل لعلاج حالات السرطان المايتومايسين - سي-MMC و لهذه المواد تاثيرات سمية خلوية كمواد مطفرة ومسرطنة Al-Hakkak *(etal*,1986;Shubber&Salih,1987) ويعد MMC ذا اهمية كبيرة في علاج بعض انواع السرطان والذي يحتاج الى تنشيط تايضي metabolic activation لكي يصبح فعالا بايلوجيا في قتل الخلايا حيث يمتلك اشكال تايضية منها (2,7diminotosene;1-phosphate analogus)كما تتاثر فعالية هذا العقار بعدة مواد حيث وجد ان الانترلوكين يزيد من فعالية العقار المستخدم ضد الورم وذلك باعطاءه بعده حيث يزيد من سمية العقار كما لوحظ ان المركب Dicoumarol له القابلية على تقليل الفعالية التايضية له وبالتالي التقليل من سميته ، ومن جانب اخر فقد وجد ان فعالية العقار تتاثر بطبيعة الظروف الهوائية واللاهوائية ودرجة الحرارة وفعالية بعض الانزيمات كما يؤثر هذا العقار على اشرطة الدنا من خلال تكوين اتحادات مع هذه الاشرطة و بالتالي التاثير في عملية التضاعف مؤديا الى حدوث تغيرات كروموسومية كما يعمل على احداث طفرات مميتة في الخلايا النطفية وفي طلائع النطف (السعدي ,1997).ولهذا ارتأينا القيام بهذه الدراسة لتحقيق الاهداف التالية:

1.دراسة تاثير المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس على مستوى انزيمات الكبد(ALP,AST,ALT)

2. دراسة تاثير المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس على مستوى بعض الهرمونات(testerone,T3,T4,LH)

3. دراسة تاثير المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500ملغم/كغم والجرعة المطفرة لعقار المايتومايسين باجراء ثلاثة تداخلات للمستخلص مع العقار على معامل الانقسام والتشوهات في رؤوس النطف وكروموسومات خلايا نقي العظم لذكور الجرذ الابيض.

4. دراسة التغيرات النسجية المرضية المتسببة عن العقار ودور المستخلص في التقليل من تلك التاثيرات في الكبد والكلية.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures

Review

استعراض المراجع (Literatures Review)

1.2 النبات المستعمل في الدراسة:

1.1.2 نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra*

2.1.2 تصنيف النبات Classification of the plant

الاسم العربي : نبات عرق السوس

الاسم الانكليزي : English name:Liquorice

الاسم العلمي: Glycyrrhiza: Scientific name المملكة: Plant: Kingdom الصنف: Class: Angiospermae فوق الصنف: Subclass: Dicotyledoneae المجموعة: Group: Thalmiforae

الرتبة: Rosales: Order العائلة: Leguminnosae: Family العائلة الفرعية: Subfamily: Papilionoideae الجنس: *Glycyrrhiza:* Genus : النوع: *glabra* *:* Species

3.1.2 الاسماء الشائعة للنبات Common Names

سوس، عرق سوس، عود السوس، نبات عطر الجذور، الخشب اللذيذ ،السوس اللذيذ. (أبو زيد،2000)

4.1.2 الموطن الاصلي للنبات Original Habitat

الموطن الأصلي لهذا النبات آسيا الصغرى وحوض البحر الابيض المتوسط إلا أنه يوجد برياً و طبيعياً في بعض المناطق في قارة أوربا في الجزء الجنوبي منها الممتد من اليونـان حتـى إسبانيا و قد إنتشرت زراعتـه فـي بيئـات مختلفة من القارات الخمس وأصبحت البلدان المنتجـة لجذوره هـي العراق و سوريا و مصـر و إيـران و تركيـا و روسيا و إسبانيا و إيطاليا، أما مناطق تواجد النبات في العراق فتشمل الموصل و سفوح الجبال الشرقية و السـهل الرسوبي الشرقي و الأوسط و منطقة المستنقعات و راوندوز(مجيد ومحمود،1988).

5.1.2 اصناف النبات Plant types:

توجد عدة أصناف من نبات السوس(Treas and Evans, 1983) والاصناف المهمة تجاريا هي:

1. *Glycyrrhiza glabra*.Var. *typica* Reg. et Hard: يتواجد هذا الصـنف فـي أسبانيا وإيطاليا وإنكلترا وفرنسـا وألمانيـا وأمريكـا ومعـروف تجاريـاً باسـم السـوس الأسـباني (Spanish liquorice).

2.. *Glycyrrhiza glabra L.* Var. *glandulifera* wald. et kit. : يتواجد هذا الصنف في روسيا ومعروف تجارياً باسم السوس الروسي (Russian liquorice).

3.. *Glycyrrhiza glabra.* Var. B-*violacea* Boiss. : يتواجد هذا الصنف في إيران والعراق

6.1.2 وصف النبات Plant description:

يوجد إثنا عشر نوعاً من هذا النبات المعروف بإسم *Glycyrrhiza* وهي منتشرة في القارات الخمس وقدأستخدم لأول مرة في مصروعرق السوس نبات معمر ينتمي الى العائلة البقولية Leguminaseae يصل طوله ما بين30 سنتيمتر إلى 1 متر، الساق منتصب ، مضلع طولياً، قوي، أجوف، و الأوراق سويقية مؤلفة من 9-17 ورقة بيضوية أو مستطيلة خضراء لزجة من الجهة السفلية الأزهار زرقاءشاحبة أو بنفسجية على شكل سنابل مستطيلة لها عشرة أسدية بينها تسعة ملتصقة وواحدة منفردة الثمرة مسطحة تحتوي مابين 3 -4 بذور بنية، الجذر خشبي والطعم سكري الجزءالمستعمل من النبات هوالجذرفي خريف السنةالثالثة بعد تجفيفه تحت الشمس(قبيسي،2000)

شكل (2-1) جذور نبات عرق السوس

7.1.2 التركيب الكيميائي Chemical Structure

تحتوي جذور عرق السوس على مركبات متعددة أهمها مادة صابونينية Saponin معروفة بإسم الكليسيريزين ذات طعم حلو تفوق درجة تسكرها بأكثر من خمسين مرة من السكر الناتج من قصب السكر و عسل النحل والتي توجد على شكل املاح الكالسيوم والبوتاسيوم بنسبة 2–15% وعندما تتحلل مائياً أو إنزيمياً يتكون مركب يعرف بإسم حامض الكليسيريزيك Glycyrrhizic Acid كما تحتوي الجذور على حامض الكليسيريتينك Glycyrrhetinic Acid (18-beta-Glycyrrhetinic Acid) بنسبة 0.5–0.9 %، كما تحتوي على هرمونات ستيرويدية والتي تشمل مواد استروجينية فضلاً عن سكريات متعددة منها 20% مواد نشوية و 3 % سكروز و 3 % كلوكوز، كما تحتوي الجذور على فينولات متعددة Polyphenols تشمل أحماض فينولية منها Chalcones ,Flavans, Flavones, and Liquiritin و آيزوفلافونويدات Isoflavonoids منها Glabridin (Wang *etal*.,2000;Chin *etal*.,2007).

تحتوي الجذور على الفلافونويدات التي تعطي اللون الأصفر البراق للجذور ومواد صمغية Gums و 15% زيوت راتنجية Resinous Oils ومواد أخرى منها 2-6 % هليونين Asparagine و مانيتول و أتروبين Atropine و كومارينات Coumarins و كولين Choline وبيتائين Betaine ومواد ذات علاقة بهرمون البروجستيرون و ستيرويدات مماثلة للهرمون المحرض لقشرة الغدة الكظرية Adrenocorticotropic Hormone (ACTH) ومواد عفصية Tannins. (Isbrucker & Burdock, 2006) لقد تم تحديد العديد من الفلافونويدات الفعالة الموجودة في عرق السوس في بلازما دم الجرذان من خلال إستخدام تقنية Liquid (LC- Chromatography – Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry– Based Method MS/MS- Based Method)وشملت هذه الفلافونويدات:

Liquiritin, Liquiritin Apioside, Liquirtigenin, Isoliquirtigenin, Isoliquirtin and Isoliquiritin Apioside (Li *etal*., 2007)

يوجد حوالي 3000 نوع من المركبات الفينولية المعزولة من أنواع عرق السوس المختلفة، في كل نوع من أنواع عرق السوس يوجد 40 – 70 نوع من الفلافونويدات والمركبات الفينولية، و من الفينولات الرئيسة الموجودة في عرق السوس هي كلايكوسيدات Isoliquiritigenin and Liquiritigenin منها Liquiritin , Apioside Isoliquiritin Licuraside and Liquiritin ومن المركبات الفينولية الثانوية المعزولة أيضDihydrophenanthrenes, Dihydrostilbenes and Chromenes (Shibata,2000) يت ال Glycyrrhizin عند اخذه عن طريق الفم الى Glycyrrheticacid ومن ثم الى -18-β glycyrrheticacid الذي يتحول الى3α-Hydroxyglycyrrhetic acid ،بوساطة فعالية الانزيمات البكتيرية

الموجودة في الامعاء الدقيقة للانسان اما في الجرذان فان التحول يتم بوساطة فعالية الانزيم glycyrrhetinate dehydrogenase الموجودة في كبد ذكور الجرذان البالغة فقط وتؤدي الهرمونات الجنسية الذكرية دوراً في تنظيم فعالية هذا الانزيم (Akao,2000)

8.1.2 الأهمية الطبية لعرق السوس

استخدمت مستخلصات عرق السوس لعلاج كثير من الأمراض إذ ثبت انه ذو فعالية استروجينية ويستخدم في علاج كثير من الإمراض الأخرى مثل مرض السعال وإيقاف أوجاع الصدر والخراج (Weerachai &Duang, 1998 ; Newall *etal*.,1996).

أثبتت الدراسات إن لمستخلص عرق السوس تأثيرا مثبطا للإصابة بفايروس الايدز (HIV) عند الأشخاص المصابين به (Hattorietal.,1989) اما المادة الفعالة وهي حامض الكليسيرايزيك(Glycyrrhizic acid) فان لها الفعالية العالية ضد فايرس HIV الذي يصيب الخلايا اللمفاوية بالكبد إذ إن لهذه المادة القابلية على الحفاظ على خلايا الكبد من التلف فضلا عن قابليتها من الحد من إنتاج الانترفيرونات (Interferons) والخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cellsالتي بزيادتها تعجل من إصابة الكبد وفشل عمله(Mori *etal*,,*1*989;Santal,1995;Sen,1999) كمايستخدم عرق السوس في تثبيط طفيلي الملاريا (Kharamzi *etal*., 1997) وطفيلي اللشمانيا (leshmaniases anti) (Chrstensen *etal*.,1994). وقد أشار Malinio (1985) إلى إن معظم المواد الصابونية تعمل على التداخل مع الكولسترول واملاح الصفراء (Bile salt) وذكرا AbrahamوOgra (1994) إن لهذه المواد الصابونية الفعالية العالية في تقليل خطر الإصابة بالبكتريا والفيروسات إذ انه عند استهلاكها تقلل من خطر هذه الإصابة.

9.1.2التأثيرات المضادة للالتهاب Anti-Inflammatory Effects

لقد أوضح الباحث Rackova وجماعته (2007) آلية التأثير المضادة للالتهاب التي يمتلكها مستخلص عرق السوس والكليسيريزين من خلال دراسة أجروها خارج جسم الكائن الحي على ثلاث أنظمة شملت الفعالية المضادة للجذور الحرة و التأثير الوقائي ضد بيروكسدة الدهون للجدار اللايبوسومي والتأثير المثبط لتحرر أصناف الأوكسجين الفعالة إذ لاحظوا أن مستخلص عرق السوس أظهر فعالية مميزة في الأنظمة الثلاثة المستخدمة التي تم إختبارها بطريقة معتمدة على الجرعة وقد عزى الباحث وجماعته هذه التأثيرات إلى مضادات الأكسدة الفينولية التي شملت مشتقات الايزوفلافان والكومارينات والكالكونات، في حين لم يظهر الكليسيريزين كفاءة ملحوظة ضد هذه الأنظمة الثلاثة مشيراً بذلك إلى أن الية الكليسيريزين المضادة للالتهاب لاتشمل تثبيط أصناف الأوكسجين الفعالة وأنه غير مسؤول عن التأثيرات المثبطة لوظائف خلايا العدلات التي يمتلكها المستخلص وإنما يعود فعل الكليسيريزين المضاد للالتهاب والحساسية إلى تأثيراته على الغدة الكظرية وإنتاج

هرمون الكورتيزول الستيرويدي المضاد للالتهاب إذ يتحول الكليسيريزين بعملية تحلل مائي داخل الجسم إلى حامض الكليسيريتينك مشابهاً بذلك هرمونات قشرة الغدة الكظرية إذ يعمل حامض الكليسيريتينك على تثبيط إنزيم 11-beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase المسؤول عن تحويل الكورتيزول بشكله الفعال إلى شكل غير فعال لذلك فإن تثبيط هذا الإنزيم يؤدي إلى زيادة معنوية في مستويات الكورتيزول و تحفيز مستقبلات Glucocorticoid معززاً بذلك فعل الهايدروكورتيزون Hydrocortisone المفرز من قشرة الغدة الكظرية والمسؤول عن تأثيرات الكليسيريزين و حامض الكليسيريتينك المضادة للالتهاب والحساسية والتهاب المفاصل ودوره في تحفيز قشرة الغدة الكظرية بعد العلاج الستيرويدي. من الاليات الاخرى المسؤولة عن فعالية الكليسيريزين المضادة للالتهاب هي تثبيط إنزيم Phospholipase A2 مؤدياً إلى تثبيط تحول الدهون المفسفرة إلى الحامض الدهني أركيدونيك Archidonic Acid الذي يثبط تكون مركبات Leukotriens التي تعد عوامل قابضة للقصبة الهوائية مؤدياً بذلك إلى تقليل تفاعلات فرط الحاسية في حالات الربو (Edward *etal*., 1996).

يمتلك Glabridin الذي يعد فلافونويد فينولي متعدد لعرق السوس خصائص متعددة أهمها مضاد للالتهاب وتكوين خضاب الميلانين إذ اكد الباحث Yokota وجماعته (1998) دور Glabridin على الجلد من خلال تأثيراته المثبطة لعملية تكون خضاب الميلانين Melanogenesis والتهاب الجلد Dermatitis بإستخدام خلايا زرعية لورم الميلانين Melanoma الماخوذة من الفئران وجلد خنازير غينيا إذ اظهرت النتائج تأثير Glabridin المثبط لفعالية إنزيم التيروسينيز Tyrosinase الذي يدخل في عملية تكوين خضاب الميلانين من دون حدوث أي تأثير على تخليق الحامض النووي منقوص الأوكسجين (DNA) لهذه الخلايا كما اثبتوا بأن التخضيب Pigmentation والاحمرار Erythema المحدث بواسطة الاشعة فوق البنفسجية من نوع B في جلد خنازير غينيا قد تم تثبيطه من خلال الإستخدام الموضعي للـ Glabridin بتركيز 0.5%. أما خارج جسم الكائن الحي فقد أظهر Glabridin تأثيرات مضادة للالتهاب من خلال تثبيطه لإنتاج جذر السوبر أُوكسايد السالب Superoxide Anion وفعاليات إنزيم السايكلوأوكسي جينيز Cylcooxygenase.

وقد أشار الباحث Fukai وجماعته (2003)الى فعالية Glabridin بوصفه مضاداً لحالات التهاب الكلية Antinephritis من خلال إعطائه بجرعة 30 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم لفئران مصابة بالتهاب الكلية لمدة 10 ايام إذ أدى ذلك إلى تقليل كمية البروتين المطروحة عن طريق البول.

كما أكد الباحث Kim وجماعته (2008)على امتلاك الفلافونويد Liquiritigenin المعزول من عرق السوس تأثيرات مضادة للالتهاب من خلال اجرائهم دراسة خارج جسم الكائن الحي بإستخدام خلايا من نوع Raw264.7 ماخوذة من الجرذان ودراسة أخرى داخل جسم الكائن الحي بإستخدام جرذان محدث فيها خزب القدم بواسطة Carrageenan، إذ نتج عن معاملة خلايا Raw264.7 مع Liquiritigenin تثبيط انتاج عامل

النخر الورمي – ألفا و IL-1 beta و IL-6 بعد التحفيز بواسطة متعدد السكريد الدهني Lipopolysaccharide (LPS)، أما في الجرذان فقد عمل Liquiritigenin على تثبيط تكون خزب القدم المحدث بواسطة Carrageenan.

أشار الباحث Cho وجماعته (2010)الى فعالية الفلافونويد Licochalcone E المثبطة لانتاج IL-12P40 الذي يعد وحدة ثانوية للـ IL-12 و IL-23 من الخلايا البلعمية نوع Raw264.7 المحفزة بواسطة متعدد السكريد الدهني من خلال إستخدامهم نموذج لالتهاب الجلد التلامسي التحسسي المزمن Chronic Allergic Contact Dermatitis المحدث بواسطة الاستعمال المباشر للـ Oxazolone وأوضحوا بذلك فعالية Licochalcone E العلاجية في تقليل حالات التهاب الجلد.

ان مستخلص عرق السوس يمتلك فعالية مضادة للالتهاب الحاد والمزمن بإستخدام فئران محدث فيها التهاب الاذن الحاد بواسطة الإستخدام الموضعي للـ 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) والتهاب المفاصل المزمن المحدث بواسطة الكولاجين البقري من النوع الثاني Bovine Collagen Type II (CII) عن طريق الحقن في البشرة كنموذج مشابه لالتهاب المفاصل الروماتيزمي للانسان Rheumatoid Arthritis إذ أدى إستخدام مستخلص عرق السوس المائي موضعياً بجرعة 1ملغم لكل أذن قبل نصف ساعة من إستخدام TPA إلى تقليل حدوث وذمة الإذن كما أدى إعطاء مستخلص عرق السوس المائي بجرعة 10 ملغم / كغم من وزن الجسم يومياً ولمدة 45 يوماً عن طريق الفم إلى تقليل مقدار التهاب المفاصل السريري وتورم القدم والتغيرات النسجية للفئران المحدث فيها التهاب المفاصل المزمن كذلك لاحظوا أن مستخلص عرق السوس عمل على تقليل مستويات السايتوكينات السابقة الالتهابية في مصل الدم وتقليل ظهور إنزيم البروتين المعدني القالبي Matrix Metalloproteinase-3 في المفاصل كما لاحظوا تثبيط تكاثر الخلايا وإفراز السايتوكينات في إستجابة للكولاجين البقري من النوع الثاني أو التحفيز بواسطة متعدد السكريد الدهني في خلايا الطحال الماخوذة من الفئران المصابة بالتهاب المفاصل المزمن والمعاملة بالمستخلص، كما إن مستخلص عرق السوس منع حدوث الإجهاد التاكسدي في أنسجة الكبد والكلية لهذه الفئران. (Kim *etal*., 2010)

10.1.2التأثيرات المضادة للأكسدة Anti-Oxidant Properities

إن أكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة Low Density Lipoproteins (LDL) تعد الخطوة الأولى و الأساس في حدوث آفة تصلب الشرايين وأن إستخدام مضادات الأكسدة الطبيعية كعرق السوس قد يفيد في تقليل هذه الحالة إذ استطاع الباحث Vaya وجماعته (1997) من عزل سبعة مركبات طبيعية موجودة في جذور عرق السوس ودراسة فعاليتها المضادة لأكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة والتي صنفت كالاتي:

Isoflavans	Hispaglabridin A
	Hispaglabridin B
	Glabridin
	4-Ō- methylglabridin
Chalcones	Isoprenychalcone derivative
	Isoliquiritigenin
Isoflavone	Formononetin

من بين هذه المركبات السبعة شكّل Glabridin النسبة الأكبر في المستخلص الخام من خلال إستخدام طرق الفصل الكروماتوكرافية عالية الكثافة High Performance Liquid Chromatography (HPLC) و قد أختبرت فعالية هذه المركبات المضادة لأكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة من خلال قياس كمية المواد الفعالة لحامض ثايوباربيتوريك Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) وكمية بيروكسيدات الدهون.

لقد أشار الباحث *Belinky وجماعته ،(1998)*في دراسة أجروها خارج جسم الكائن الحي إلى تأثيرات الـ Glabridin المثبطة لأكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة المحدثة بواسطة أيونات النحاس أو بواسطة الخلايا البلعمية من خلال قابليته الكاسحة للجذر الحر 1,1 – Diphenyl-2- Picryl – Hydrazyl (DPPH) و قابليته لجذب المعادن الثقيلة وتثبيط تكوين المواد الفعالة لحامض ثايوباربيتوريك وبيروكسيدات الدهون

وفي دراسة أخرى أشار الباحثان AviramوFuhrman (1998)إلى أن أكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة المعتمدة على الخلايا البلعمية تعد سمة مميزة لحدوث تصلب الشرايين وأوضحا أن تناول المواد الغذائية الغنية بالفلافونويدات الفينولية المتعددة كعرق السوس ينتج عنه زيادة الدهون البروتينية واطئة الكثافة المرتبطة مع هذه الفلافونويدات معززة بذلك قلة في أكسدة هذه الدهون و انخفاضاً في قابليتها على التجمع إذ تعمل الفلافونويدات الفينولية المتعددة خارج أو داخل جسم الكائن الحي على تقليل الحالة التاكسدية للخلايا البلعمية و من ثم تقليل أكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة المعتمدة على هذه الخلايا.

لقد اشار Haraguchi وجماعته (2000) في دراسة أجريت خارج جسم الكائن الحي فعالية مشتقات الايزوفلافونويدات المعزولة من جذور عرق السوس في حماية بيوت الطاقة للخلايا الكبدية ضد الإجهاد التاكسدي والتي شملت:

Glabridin, Hispaglabridin A, 4-Ō-methylglabridin and 3-Ō- methyl glabridin

اذ تعمل هذه الايزوفلافونويدات على تثبيط بيروكسدة دهون بيوت الطاقة المرتبطة بنقل الكترونات السلسلة التنفسية وحماية فعالية الإنزيمات التنفسية لبيوت الطاقة ضد الأذى المحدث بواسطة بيروكسدة الدهون المعتمد على NADPH والأذى المحدث بواسطة Dihydroxy Fumarate . اكد Fuhrman وجماعته (2002) إلى دور المستخلص الكحولي لعرق السوس بوصفه مضاداً فعالاً للأكسدة في الاشخاص المصابين بإرتفاع مستوى الكوليستيرول في الدم من خلال إعطائهم المستخلص الكحولي بجرعة 0.1 غم / يومياً لمدة شهر واحد إذ أظهرت النتائج فعالية عرق السوس في تقليل تعرض بلازما الدم للأكسدة وزيادة مقاومة الدهون البروتينية واطئة الكثافة ضد مسببات حدوث تصلب الشرايين الثلاثة وهي أكسدة الدهون البروتينية واطئة الكثافة Oxidation وتجمعها Aggregation و إحتباسها Retention كذلك عمل على تقليل مستوى الكوليستيرول و الكليسيريدات الثلاثية في الدم.

و في دراسة أجراها الباحث Gabbay وجماعته (2007)على مجموعة من مضادات الأكسدة الطبيعية ومن ضمنها الكليسيريزين في علاج مئة مريض يعانون من التهاب الكبد الفايروسي المزمن نوع C بعد فشل إستجابتهم للعلاج بالانترفيرون إذ أدى إعطاء كبسولات حاوية على 500 ملغم من الكليسيريزين عن طريق الفم لمدة 24 اسبوعاً مع الحقن الوريدي للكليسيريزين بجرعة 120 ملغم مرتين إسبوعياً خلال أول عشرة أسابيع من العلاج إلى تحسن الحالة الالتهابية وتقليل امتداد الأذى الكبدي للخزع الماخوذة من المرضى بنسبة 48% وإنخفاض في فعالية الإنزيمات الكبدية (AST)و(ALT) في 44% من المرضى.

11.1.2 التأثيرات المضادة للسرطان Anti-Carcinogenic Effects

ان الحماية التي يمتلكها مستخلص عرق السوس والمركبات الكليسيريزية ضد العوامل المسرطنة Carcinogenic Agents تمت دراستها في أنواع مختلفة من الحيوانات التجريبية إذ يعمل عرق السوس ومشتقاته بوصفها عوامل وقائية ومثبطة ضد المسرطنات التي تحدث أذى في الحامض النووي منقوص الأوكسجين (DNA) وأن آلية هذا التأثير تتضمن فعل حامض الكليسيريزيك بوصفه عاملاً مثبطاً لإنزيم لايبوأوكسي جينيز Lipooxygenase وإنزيم السايكلوأوكسي جينيز Cyclooxygenase وبروتين كاينيز Protein Kinase C و منظماً كابحاً لمستقبلات عامل النمو البشري ، في حين تحث الفينولات المتعددة لعرق السوس على حدوث عملية الموت المبرمج Apoptosis للخلايا السرطانية (Wang & Nixon, 2001).وفي دراسة مقارنةً لاختبار تأثيرات الكليسيريزين وحامض الكليسيريتيك على نمو ورم الميلانين من نوع B_{16} وتكوين خضاب الميلانين سجل الباحث Abe و جماعته (1987) بأن كلا المركبين يمتلكان تأثيراً مثبطاً لنمو هذه الخلايا إلا أن التأثير المثبط لحامض الكليسيريتيك كان أكثر قوة من الكليسيريزين إذ أوضح الفحص الخلوي للمستنبتات

الزرعية المعاملة بحامض الكليسيريتيك بجرعة 12.5 مايكروغرام/ مليلتر بعد مرور أربعة أيام تجمع الخلايا في طور الفجوة الاول (G1) من دورة الخلية ونقصان في التجمعات الخلوية لطور تركيب الحامض النووي منقوص الأوكسجين Synthesis-Phase (S-Phase) و G2/M مبيناً بذلك أن خصائص حامض الكليسيريتيك المثبطة للنمو لم تكن بسبب سميته للخلايا Cytotoxicty كما أدت المعاملة بحامض الكليسيريتيك بجرعة 10 مايكروغرام/ مليلتر على تعزيز تجمع خضاب الميلانين ضمن هذه الخلايا بعد إسبوع واحد.

ان الكليسيريزين له دور في تقليل نسبة الإصابة بسرطانة الخلية الكبدية في الفئران المحدثة بواسطة Diethyl Nitrosamine إذ أدى الحقن العضلي بجرعة 2 ملغم من الكليسيريزين / فأرة لمدة 3 ايام إسبوعياً إلى تقليل نسبة الحدوث والعدد الكلي لسرطانة الخلية الكبدية بعد مرور 32 إسبوع من المعاملة(Shiota *etal.*, 1999) .

يعد Glabridin أستروجين نباتياً لإمتلاكه تركيباً مشابهاً للاسترادايول إذ يرتبط بمستقبلات الاستروجين للانسان ويحفز فعالية إنزيم كرياتين كاينيز Creatine Kinase (CK) في رحم إناث الجرذان وغضروف جسم العظم وكردوس العظم والابهر والبطين الايسر للقلب، إذ أشار الباحث Tamir وجماعته (2000) إلى إمتلاك Glabridin فعالية مضادة لتكاثر الخلايا السرطانية الماخوذة من ثدي الانسان كما أوضح أن للـ Glabridin تأثير ثنائي الطور على نمو الخلايا الورمية إذ أنه يظهر تأثير معتمد على مستقبلات الاستروجين ومحفز للنمو عند التراكيز الواطئة 10 مايكرومول- 10 نانومول وتأثير آخر غير معتمد على مستقبلات الاستروجين ومضاد لتكاثر الخلايا السرطانية عند التراكيز اكثر من 15 مايكرومول.

في دراسة أخرى أجراها الباحث Jo وجماعته (2005)على خلايا سرطان الثدي للانسان بإستخدام المستخلص الكحولي لعرق السوس الذي أظهر تأثيرات استروجينية مشابهة للاسترادايول والذي حث على حدوث عملية الموت المبرمج لهذه الخلايا بجرعة 100 مايكروغرام/ مليلتر إذ توضح النتائج التنظيم المتزايد للجين الكابح للورم P53 والبروتين السابق لعملية الموت المبرمج Bax و إحداث عملية تثبيط لدورة الخلية في طورها الأول (G1).لقد أشارالباحث Park وجماعته (2010) إلى فعالية المستخلص الكحولي لعرق السوس المحتوي على فلافونويد Licoricidin المثبطة لهجرة والتصاق الخلايا السرطانية لغدة البروستات في الإنسان إذ يعمل المستخلص الكحولي على تثبيط عامل النمو البشري والقاعدي المسبب لعملية هجرة وغزو والتصاق الخلايا السرطانية بطريقة معتمدة على الجرعة كما يعمل المستخلص على تثبيط إفراز وفعالية إنزيم البروتين المعدني القالبي من نوع MMP-2 و MMP-9 وتقليل مستويات بروتين Integrin-alpha 2 وجزيئة الالتصاق داخل الخلوية وجزيئة التصاق الخلية الوعائية.

12.1.2التأثيرات المشابهة لفعل هرمون الموDق Estrogen – Like Effects

كمـا ذكرنـا آنفـاً فـأن فلافونويـدات عـرق السـوس تمتلـك تـأثيرات مشـابهة لهرمـون المـودق ومـن بينهـا Glabridin، إذ أشار الباحث Choi (2005) الى أن Glabridin يمنع هشاشة العظام Osteoporosis والتهاب العظام من خلال دراسة أجراها لمعرفة تأثير Glabridin على وظيفة مستنبتات أرومات العظم Osteoblasts المأخوذة من الفئران وإنتاج العوامل الموضعية في هذه الخلايا إذ اظهرت النتائج أن إستخدام Glabridin بجرعة 10 مايكرومول أدى إلى زيادة في نمو هذه الخلايا وإرتفاع معنوي في فعالية إنزيم الفوسفاتيز القلوي Alkaline Phosphatase (ALP) ومحتوى الكولاجين وإفراز أوستيوكالسين Osteocalcin من هذه الخلايا كما لاحظ تأثيرات Glabridin على عامل النخر الورمي - ألفا المسبب لعملية الموت المبرمج و إنتاج بروستاكلاندين E_2 Prostaglandin (PGE_2) و أوكسيد النتريك في أرومات العظم، إذ أوضح أن إستخدام Glabridin بجرعة 1–10 مايكرومول أدى إلى منع حدوث عملية الموت المبرمج المحدث بواسطة عامل النخر الورمي - ألفا وقلل من إنتاج بروستاكلاندين E_2 وأُكسيد النتريك في هذه الخلايا.

كذلك اكدت دراسات أجريت خارج جسم الكائن الحي بإستخدام الانسجة الوعائية للانسان أن Glabridin يحفز على تصنيع الحامض النووي منقوص الأوكسجين للخلايا البطانية الوعائية وأنه يمتلك تأثير على تكاثر خلايا العضلة الملساء للأوعية الدموية المأخوذة من الانسان، أما في الدراسات التي أجروها على إناث الجرذان السليمة والمستأصلة المبايض لاحظوا أن Glabridin يحفز الفعالية الخاصة لإنزيم كرياتين كاينيز في الشريان الأبهر والبطين الأيسر للقلب في حين يحفز Glabrene تصنيع الحامض النووي منقوص الأوكسجين للخلايا الوعائية مؤكدين بذلك فعالية هذه المركبات في تحسن الأذى الوعائي وتجدد الشرايين من أجل منع أمراض الجهاز القلبي الوعائي بالاضافة إلى تأثيرات Glabridin و Glabrene المشابهة لهرمون استراديول-17 بيتا Estradiol–17 beta من خلال تحفيز الفعالية الخاصة لإنزيم كرياتين كاينيز في جسم العظم وكردوس الغضروف لاناث جرذان غير بالغة من خلال تغذيتها بشكل يومي على Glabridin و Estradiol–17 beta كلاً على حدا و مع بعضهما البعض لمدة 3 - 14 يوم، كذلك أوضح الباحث بأن Glabridin يحفز إنزيم كرياتين كاينيز في إناث الجرذان المستاصلة المبايض بشكل مشابه لهرمون Estradiol–17 beta (Somjen *etal.*, 2004)

13.1.2التأثيرات الجانبية لعرق السوس Side Effects of Licorice

بالرغم من كون الكليسيريزين أحد أهم المكونات الرئيسة الفعالة لعرق السوس و امتلاكه للعديد من التأثيرات الإيجابية كما ذكرنا فإنه في الوقت ذاته يعد المسؤول عن التأثيرات الجانبية لعرق السوس منها ارتفاع ضغط الدم و احتباس الصوديوم وطرح البوتاسيوم مؤدياً إلى حدوث الخزب و انخفاض مستوى البوتاسيوم في الدم ناتجاً عنه عدم إنتظام في ضربات القلب و اعتلال عضلي في الأطراف العليا (Ploeger, 2000). ينتج عن أيض عرق

السوس داخل الجسم حامض الكليسيريزيك الذي يتحلل مائياً إلى حامض الكليسيريتك وهو من المثبطات التنـافسية القويـة لإنـزيم 11-B-Hydroxysteroid Deydrogenase Type 2 (11-B-HSD2) إذ أنـه فـي الظـروف الاعتيادية يحول إنـزيم 11-B-HSD2 الكـورتيزول إلـى كـورتيزون جـاعلاً الدوسـتيرون Aldosterone يشـغل مستقبلات Mineralocorticoid وعند تثبيط فعالية هذا الإنـزيم (11-B-HSD2) يعمـل الكـورتيزول علـى إزاحة الدوستيرون من مستقبلات Mineralocorticoid في النبيبات الملتوية القاصية للكلية مسبباً بذلك إحتبـاس الصوديوم وفقدان البوتاسيوم ناتجاً عنه حالة ارتفاع ضغط الدم وانخفاض مستوى البوتاسيوم في الدم (Vanden *etal.*, 2005). لقد أشار الباحث Pant وجماعته (2010) إلى أن تناول كميات كبيرة من عرق السوس ولفترات طويلة أدت إلى حدوث ضعف عضلي متقدم شمل مناطق الأرجل واليدين والذراعين والفخذين وصولاً إلى منطقة الجذع مع إرتفاع ضعط الدم وإنخفاض مستوى البوتاسيوم في الدم في شخص عمره 65 سنة.

أن إعطـاء حـامض الكليسيريزيك لـذكور جـرذان بجرعـة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريـق الفم لمـدة خمسة أسابيع أدى إلى حدوث ارتفـاع ضـغط الـدم وتثبيط إستنسـاخ إنزيمـات 11-B-HSD2 و CYP11B2 فـي الأوعية الدموية مؤدياً إلى انخفاض إنتاج الدوستيرون و ارتفاع في إنتاج كورتيكوستيرون Corticosterone في الأوعية الدموية مسبباً بـذلك زيـادة فـي استجابة الأوعيـة الدمويـة القابضـة للــ Norepinephrine (Wu *etal.,* 1999). وأثبتت الدراسـات أن إعطـاء عرق السوس يسبب انخفاضـاً فـي مستوى هورمـون الشـحمون الخصـوي Testosterone بسبب حـامض الكليسيريزيك الذي يتداخل مـع إنـزيم 11-B- HSD2 العامـل المسـاعد فـي عملية تحـويل Androstenedione إلى التستوستيرون، إذ أشار الباحث Armanini وجماعته (1999)إلـى أن إعطـاء 7 غرامـات مـن عـرق السـوس المحتويـة علـى 500 ملغـم مـن الكليسـيريزين يوميـاً و لمـدة إسـبوع سـبب إنخفاضاً في مستوى هورمـون التسـتيرون testerone فـي مصـل الرجـال الأصـحاء مـن خـلال تثبيط الإنزيمـات المطلوبة في تصنيع هذا الهورمون.

2.2 عقار المايتومايسين- سي (Mitomycine – C)

عقار المايتومايسين هو مضاد حيوي مستخلص من جرثومة فطرية من سلالة الـActinomyces كان قد استخدم سابقا بوصفه مضاد انقسام وخاصة في السرطانات الغدية Adenocarcinoma وقد عرف عنه دورمؤكد في تثبيط صانعات الليف، ومن ثم منع تشكل الندبات والالتصاقات او انقاصها و بناء عليه فقد استخدم استخداماً مفيداً في الجراحة العينية (Chen C.W *etal*.,1990) .

يعطى المايتومايسين عن طريق الوريد لعلاج السرطان في القناة الهضمية العليا (مثل سرطان المريءEsophageal cancer ، سرطانات الشرج Anal cancers، سرطان الثدي Brest cancer، وكذلك عن طريق المثانة Bladder cancer) كما انه يسبب تأخر سمية نخاع العظم إلا ان استخدامه لفترة طويلة قد يؤدي الى ضرر دائم في النخاع العظمي بالاضافة الى ذلك فإنه يسبب تليف الرئة وتلف الكلى كذلك استخدم المايتومايسين موضعيا وليس عن طريق الوريد في عدة مجالات : الاول في السرطان وخاصة أورام الغشاء البريتوني والثاني في جراحة العيونEye surgery والثالث في تضيق المريءوالقصبة الهوائية Esophagal and Tracheal stenosis من خلال خفض الخلايا اليفيةFibroblasts(Kersey&Vivian,2008).

يعتبر العقار مضاد للسرطان Anticancer ومضاد للتكاثرAntiproliferation بالنسبة للخلايا التي تظهر أعلى معدل للانقسام عن طريق تثبيط تخليق الدنا وذلك من خلال إرتباطه تساهميا مع شريط الـ DNAالمكملComplimentry DNA مما يؤدي الى انخفاض في الكوانين و فقدان مجموعة المثيل داخل الخلية وبذلك يتأيض العقار الى عامل مؤلكل Alkylating agent (Tomsaz&Palom,1997).

يتطلب العقار انزيمات نوعية بين خلوية لتوليد فعاليته المعتدلة والتي تتأثر بمستوى الPh الموضعي ايضاً وهذا ما يوضح انتقائيته لبعض الاورام الصلدة وقدرته الى تثبيط نموالخلايا الليفية (Cumming *etal* , 1998).

يعود السبب في استخدام المايتومايسين كدواء مضاد للاورام الى فعله المباشر على الدنا وهناك عمليتين تكونان مسؤولتين عن تأثيراته البايولوجية وهما اولا : الكلة الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNAalkyalation (والتي تقود الى ارتباطات عبورية Crosslinks) وثانيا : الجذور الحرة مثل Superoxide ,Hydroxyradicals (والتي تؤدي الى كسور في شريط الدنا) (Kang *etal*.,2006).

وقدوجدت الخياط (1999) ان المايتومايسين قد رفع من معدل التغيرات الكروموسومية والتبادل الكروماتيدي الشقيقي وخفض من معدل الانقسام وثبط اليات تضاعف الخلية اذ انه يخفض النسب المؤية لطور M3 ويزيد من النسبة المؤية لطور M1 وفي دراسة اجريت لمعرفة التاثير السلبي للعقارعلى الحبال الصوتية في الكلاب لوحظ انه ادى الى ضمور الحبال الصوتية (Spector *etal*.,2001).

كما دلت النتائج حول الاثر السام والمطفر للعقار على نسبة التشوهات الكروموسومية اضافة الى انخفاض نسبة معامل الانقسام في نخاع العظم والطحال (Bakr,2006).

3.2 التحليلات الوراثية الخلوية (Cytogenetic analyses):

اعتمدت اللبائن او خلاياها الكشف عن التأثيرات السمية الوراثية والخلوية للكثير من المواد الكيميائية والفيزيائية والبايولوجية داخل جسم الكائن الحي او خارج جسم الكائن الحي لتحديد مقدار ونوع الضررالحاصل في المادة الوراثية للخلية لمعرفة قابليتها على استحثاث الطفرات الوراثية التي قد تؤدي الى ظهور السرطانات وان التغيرات الكروموسومية يمكن ان تحصل تلقائيا او من خلال عوامل تؤثر أما في الطبيعة التركيبية للكروموسومات أو في ميكانيكية حركتها خلال الانقسام الخلوي و هناك العديد من الفرضيات التي توضح حدوث مثل هذه التغيرات فالاشعة المؤينة Ionizing radation للنظائر المشعة Radioisotopes تؤدي الى التحطيم المباشر للعمود الفقري للدنا وتجعله ضعفا سهل الكسر (Crooketal.,1986).

كذلك اشارت الدراسات الوراثية الى قابلية العديد من المواد المضادة للسرطان الى قابليتهاعلى تحطيم المادة الوراثية وبالتالي تعيق استمرارية الانقسامات الخلوية فقد بين Miura واخرون (1983) ان عقار المايتومايسين - سي(MMC) يؤدي الى تكوين تغيرات كروموسومية في الخلايا الليفية. لقد اتبعت طرق عديدة في تشخيص القدرة على احداث التطفير والتسرطن كاختبار التشوهات في رؤوس النطف،اختبار التشوهات الكروموسومية واختبار تحلل الدنا (Rao *etal*.,2000).

1.3.2 إختبار معامل الانقسام الخيطي (Mitotic index assay(MI)):

اعتمد هذا الاختبار الذي يمثل نسبة عدد الخلايا المنقسمة في المراحل الانقسامية المختلفة الى العدد الكلي للخلايا في دراسات عديدة فعلى سبيل المثال لا الحصر طبق هذا الاختبار لبيان التأثير السمي الوراثي الخلوي للعديد من المواد الكيميائية والفيزيائية والبايولوجية حيث أشار Littefield وجماعته (1980) الى تأثير المايتومايسين في تثبيط معامل الانقسام للخلايا اللمفاوية في الانسان في حين بين Ataya وجماعته(1989) الى تأثير عقارالسايكلوفوسفومايد(CFA) في تثبيط معامل الانقسام لخلايا نقي العظم للجرذ ، كما سبب عقارgemcitabinلعلاج الامراض السرطانية انخفاض معنوي في معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الفئران المعاملة بجرعة 15 ملغم/كغم (Mohammed *etal*.,2009).

اضافة الى ان كل من عقاري HycanthoneوPraziaqunte المستخدمان في علاج البلهارزيا يسببان انخفاض في معامل انقسام خلايا نقي العظم للفئران (Subber&Salih,1988).

وقد تم استخدام هذا الاختبار في دراسات عديدة ففي دراسة أجريت على بعض الاشخاص المدخنين وغيرالمدخنين لوحظ زيادة معنوية في معامل الانقسام خلايا الدم للاشخاص المدخنين كما استخدم اختبارMIلمعرفة التأثيرات التي تسببها المبيدات الزراعية فقد أدت معاملة الفئران بجرع متدرجة من مبيد Nuracron.الى انخفاض معنوي كبير في MI (Zahran *etal*.,2005).

كما استخدم الاختبار لملاحظة التأثيرات التي تسببها بعض المواد المستخدمة في الصناعة اذ ادت اضافة مادة الكوسيبول المستخلصة من بذور القطن الى الاعلاف الحيوانية الى انخفاض في نسبة الخلايا كما تؤثر بعض المواد المضافة للاغذية كالفيتامينات مثل(A,B,C,E) على معدل الانقسامات الخيطية للخلايا (Watson *etal*.,2000).

واشارت بعض الدراسات ان معامل الانقسام يستخدم كدليل على وجود الملوثات الكيميائية ومخلفات المصانع و العوامل البايولوجية الملوثة في البيئة اظهرت دراسة لمياه الانهار الملوثة وجود إختلافات معنوية لمعامل انقسام خلايا الاسماك عند المعاملة بمياه تلك الانهار(Muschio,2009).

كما درست التأثيرات الوراثية والخلوية لبعض النباتات الطبية فقد وجدت النعيمي (2007) ان المستخلص الايثانولي لنبات الكبر *Capparisspinosa* و المستخلص الميثانولي لنبات الحميض *Rumexacetossella* يؤدي الى زيادة معامل الانقسام الخلوي للفئران المختبرية أما السعدي (2008) فقد لاحظت انخفاض لمعامل الانقسام لجذورالبصل *Allium cepa* المعاملة بالمستخلص القلويدي الخام لنبات المديد *Convolvulus arvensis* في حين لاحظت العبيدي (2008) ارتفاع قيمة MI لخلايا نقي العظم في الفئران المختبرية المعاملة بالمستخلص الكحولي للقيصوم *Achillea millefolium* كذلك يتأثر MI بالعوامل الفيزيائية ومنها الاشعاع حيث بين Adhia (2001) ان التعرض لجرعة (300rad) من اشعة كاما ادت الى انخفاض قيمة MI لخلايا نقي العظم للجرذان بشكل حاد.

2.3.2 اختبار التشوهات في رؤوس النطف (Sperms Head Abnormality Assay):

ان اختبار تشوه النطف يوصف على انه نقص في رؤوس حيامن الحيوانات المختبرية اذ امكن اختبارقابلية المطفرات في التأثيرعلى صحة التكاثر من خلال اختبارها على رؤوس الحيامن وتتضمن هذه التأثيرات انتفاخ رأس الحيمن وتضخمه أويكون رأس الحيمن صغير جدا مقارنة مع الحيمن الطبيعي أوتكون ذي رأس مثلث لذلك يستخدم هذا الاختبار دليلا على مدى قدرة بعض المطفرات في التأثير على صحة التكاثر (Martin,2003;Sun *etal*.,2006).وقد وجد Yang وجماعته (2004) ان معظم المواد التي تسبب تشوهات في رؤوس النطف هي مواد مطفرة ، اثبت ذلك من خلال اختبارات اخرى على مستوى الخلايا الجنسية

(Germ cells) وان زيادة هذه التشوهات تكون مرتبطة عادة باختزال الخصوبة وحصول العقم في الحيوان والانسان.

تسبب بعض العقاقير الطبية تغيرات في الشكل المظهري والتركيب الوراثي للنطف ويتفاوت تأثيرها حسب طبيعة عمل العقار و تركيبه الكيميائي اذ ادت معالجة المرضى بالعقاقير المضادة للسرطان مثلEoposide,Elisplatin,Bleomycine الى حدوث تغيرات عددية لكروموسومات الخلايا الجنسية وخاصة للكروموسومات (Y،X،6،16،18) (Philipe *etal.*,2001).

كما لوحظ ان معاملة الجرذان بتراكيز متدرجة من Gabapentinو Phenytion اللذان يستخدمان في علاج الصرع سبب تغيرات طفيفة في رؤوس النطف (Alkhila,2007) , وبين El-Saeedy وجماعته (2005) ان عقارUrethane سبب تشوهات في نطف الفئران المعاملة بجرع متدرجة من العقار اضافة الى تغيرات نسجية في الخصية ولم يسبب عقارPraziquantel المستخدم بصورة واسعة لعلاج البلهارزيا أي فرق معنوي بين الحيوانات المعاملة بجرع مختلفة من العقار ومجموعة السيطرة بالنسبة لاختبار SHA (Aduloju *etal.*,2008) , كما وتسبب بعض المستخلصات النباتية التشوهات في الخلايا الجنسية اذ سبب مستخلص نبات النيم زيادة في تشوهات النطف لاحتوائه على مركب furan الذي يعزى له الفعالية السمية للكثير من المركبات كالافلاتوكسينات (Khan &Awasthy,2003). بينما لم يؤثر مستخلص نبات Tongkat Ali على النطف عند تجريع الجرذان بجرع متدرجة من المستخلص (Noor *etal.*,2004).

كذلك سبب الجهد التأكسدي oxidative stress في الاشخاص المدخنين تحلل الدنا للخلايا الجنسية نتيجة لارتفاع تركيز ROS الذي يعتبر سبب رئيسي في تشوهات النطف اضافة الى انه يؤدي الى العقم وحدوث حالات الاسقاط والولادات المشوهة (Ahmadi & NG,1999;Host *etal.*,2000).

ايضا سبب الجهد التأكسدي المستحث بمادة Streptozotocin وNicotinamide ارتفاع نسبة التشوهات في رؤوس النطف في الجرذان مثل الرأس المزدوج والرأس المنشطر (Rabbani *etal.*,2009).

3.3.2 اختبار التشوهات الكروموسومية(Chromosomal Aberration Assay(CA):

يمكن تعريفها على انها ضرر يحدث في الكروموسوم بفعل العوامل الفيزيائية والكيميائية المختلفة وتكون على نوعين إما عددية (Nuerical CA) أوتركيبية (Structural CA) فالعددية تتضمن فقدان أواكتساب كروموسوم كامل أما التشوهات التركيبية فتحدث غالبا عندما ينكسر الكروموسوم فمثلا عندما يحدث نقص في الكروموسوم نتيجة التعرض الى بعض العوامل المطفرة ، الاشعاعات وغيرها من المواد وتحدث التشوهات

الكروموسومية خلال الطورالتركيبي synthetic phase من دورة الخلية وينجم عنها كسر في كروماتيد مفرد لاحد الكروموسومات (Tamarin,1996;Orlando&Eva,2003;Bakr,2006).

اجريت العديد من الدراسات لبيان تأثير انواع مختلفة من المستخلصات النباتية للكشف عن قابليتها في استحثاث التغيرات الكروموسومية وذلك لتقييم التأثيرالسمي الوراثي في كروموسومات اللبائن سواء كان ذلك في الخلايا الجسمية أوالخلايا الجنسية ففي دراسة أجريت على أوراق الحبة السوداء *Nigella sativa* لوحظ قابليتها على اصلاح التشوهات الكروموسومية في الفئران المختبرية (الاوسي،2006). كما استخدمت القمم النامية للباقلاء المعاملة بمستخلص نبات*Origanum majorana* في تقليل نسبة الاختلالات الكروموسومية الناتجة عن مركب ازايد الصوديوم (Sameer,2008). اضافة الى ذلك استخدم مستخلص نبات القرفة لتقليل الاختلالات الكروموسومية المستحثة بعقار المايتومايسين- سي (MMC) في خلايا مبيض الهامستر الصيني خارج الوسط الحي عند اضافته للوسط الزرعي بتركيز 2.5 µm (Kadowaki *etal*.,2001).

يستخدم اختبار(CA) للكشف عن القدرة التطفيرية لبعض العقاقيرالطبية ولاسيما تلك المستخدمة لعلاج السرطان فقد بين Miura وجماعته (1983) قدرة عقارالمايتومايسين–سي (MMC) على حث تكوين التغيرات الكروموسومية في الخلايا اللمفاوية كما اشارAbou-Tarboush وجماعته (1999)الى انه عندحقن 4 ملغم/كغم من المايتومايسين-سي(MMC)في التجويف البريتوني في الفئران سبب حدوث انحرافات كروموسومية في خلايا نقي العظم بعد (96,84,72,48,24,12) ساعة من الحقن وكذلك تحدث انحرافات كروموسومية للأجنة بعمر 13 يوم عند إناث الفئران الحوامل بجرعة 6 ملغم/كلغم من العقار بعد 24 ساعة من الحقن , كما حث عقار Anthracycline انواع مختلفة من التشوهات الكروموسومية مثل الكسور الكروموسومية , الفجوات , تبادلات كروماتيدية , التصاقات كروموسومية وقطع كروماتيدية في الخلايا اللمفاوية للأنسان خارج الوسط الحي (Khan *etal* , 2009).

واستخدمت بعض الدراسات هذا الاختبار لتشخيص الامراض المرتبطة بالكروموسومات ففي دراسة اجريت على عينة من نساء يعانين انقطاع الطمث وجد إن نسبة منهن تعاني من خلل في الكروموسومات تمثلت بفقدان أو تكرار كرموسوم X أو نقص في أحد اذرعه (Kalavathi *etal* , 2010).كما بين Hundal و آخرون (2009) إن 5-15% من الرجال المصابين بأنعدام النطف (Azospermia) يعانون من ارتفاع نسبة الاختلالات الكروموسومية وخصوصاً التبادلات الكروموسومية 45xy.

اما بالنسبة للعوامل الفيزيائية فقد أدى التعرض لليورانيوم المخصب المستخدم في صناعة الاسلحة الى زيادة نسبة الاختلالات الكروموسومية المتمثلة بالكروموسومات الحلقية (Ring chromosome) والكروموسومات

الثنائية السنترومير(Dicentric chromosome) في الجنود الذين اشتركوا في حرب الخليج والبلقان والذين كانوا يعانون من اعراض مرضية غامضة (Schroder *etal* , 2003)

وهناك عدة اسباب لحدوث التشوهات الكروموسومية يمكن تقسيمها الى:-

1- اسباب خارجية Exogenous causes of CA:-

تشتمل على عوامل فيزيائية منها أشعة اكس (X-Ray) وجسيمات الفا وبعض الاشعة المؤنية فضلاً عن عوامل مؤكسدة بيروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide) وجذر الهيدروكسيل (Hydroxyl radical) التي توصف بأنها مواد تسبب كسور كروموسومية (Clastogenic material) (Awa , 1974).

اشار Nichol (1983) الى إنه المركبات الكيميائية لها القابلية على احداث الانحرافات الكروموسومية ومنها مركبات النايتروز , العناصر الثقيلة , متشابهات البايرميدين (Pyrimidin analog) وغيرها من المركبات التي لها القابلية على احداث الكسور الكروموسومية.

ان عمليات الضرر الكروموسومية تعتمد على نوع العامل المستخدم فمثلاً الاشعة المتأينة (Ionized radation) تسبب كسر شريط الـDNA ،الاشعة فوق البنفسجية تحث تكوين دايمرات البايرميدين والعناصر القلويدية تحث تكوين عملية الالكلة (Alkalylation method) مثل مادة السورالين (Psoralin) فضلاً عن مركبات Acriflavin , Proflavin التي لها القابلية على التداخل بين الحلزون المزدوج الشريطي للـDNA (Fridbergetal , 1995) يمكن ملاحظة الكسور الكروموسومية الناجمة من العوامل الخارجية في المناطق الغنية بالقواعد النتروجينية الكوانين و السايتوسين وهذه العملية لم تفهم بعد فضلاً عن حدوث الكسر في كثير من مناطق الـ Hot spot من هذه العوامل مادة المايتومايسين سي – (MMC) والتي احياناً تسبب التداخل مع الذراع كاملاً (Hus *etal* , 1978).

وجد Cynthia وجماعته (1999) إن مركبات النايتروز والعوامل المؤكسدة لها دوراً مهم في حدوث التشوهات الكروموسومية إذ تؤثر هذه المواد في إنزيم (PARP) Poly (ADP-ribose) Poly merase الذي يكون مهماً في عمليات الثبات الكرموسومي (Chromosome stability) وإعادة الارتباط بعد تضاعف شريطي الـ DNA ونتيجة تأثير هذه المركبات على إنزيم PARP سوف تحدث عملية تكرار في الكروموسوم أثناء عملية التضاعف.

تلعب بعض انواع العلاجات الكيميائية دور مهم في استحثاث التشوهات الكروموسومية فقد لوحظ إن العلاج Etiposid له دور مهم في حدوث تشوهات في ذرية الاشخاص الستخدمين لهذا العلاج بسبب قابليته على استحثاث التشوهات الكروموسومية في الخلايا الجنسية الذكرية والانثوية (Freancesco *etal*., 2000).

2- اسباب داخلية Endogenus causes of CA:-

إن العديد من العوامل الوراثية الداخلية تسبب التشوهات الكروموسومية والتي تبدو واضحة ولكنها نادرة إذ تحدث هذه التشوهات نتيجة نقص في الانزيمات المسؤولة عن عمليات إصلاح الضرر الشريطي DNA (DNA repair) لذلك ينجم عنها امراض وراثية تحدث في الخلايا الجسمية مثل الامراض السرطانية (Alter & Potter , 1983; Shiloh , 1995).

تلعب بعض الجينات مثل جينات التيلومير (Telomer gene) دوراً فعالاً في حدوث التشوهات الكروموسومية إذ تتوقف الجينات عن العمل في المراحل المبكرة من التطور الجنيني (embryonic metamorphosis) ونتيجة لهذا التوقف تحدث حالات انتشار النهايات الكروموسومية غير الناضجة (Fitzgerald & Morris , 1984). كما يمكن للتسلسلات المتكررة (repeated sequence) والمنتشرة على طول الجينوم إن تكون احد مسببات الانحرافات الكروموسومية بسبب ميل هذه التكرارات الى تكوين عمليات اعادة التوليف الشاذ (Ectopic recombination) وغالباً ما تحدث هذه العمليات في المناطق الوسطية من ذراع الكروموسوم (Baumer *etal* , 1998).إن حدوث عمليات التوليف الشاذ ينجم عنها عدة امراض منها متلازمة هانتير (Hynter syndrome) الذي يحدث نتيجة انقلاب في الكروموسوم فضلاً عن حدوث امراض عصبية مثل مرض الشلل الارتعاشي بسبب حدوث حذف في المناطق الكروموسومية المسؤولة عن مسار الايعاز العصبي (Lagersted *etal* , 1997).

اما فيما يخص استمرار التشوهات الكروموسومية داخل الجسم فإن التحريات التي أجريت على خلايا الدم البيض لبعض الاشخاص المعرضين للإشعاعات شخصت كروموسومات تلك الخلايا بأنها حاوية على التشوهات الكروموسومية وهذا التشخيص فتح الآفاق لإستخدام التشوهات الكروموسومية كمؤشر وراثي لإيضاح مدى تعرض المناطق للإشعاعات (Hand *etal* , 2005).

الفصل الثالث
المواد وطرائق العمل
Materials and Methods

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials & Methods

1-3 المواد Materials:-

1-1-3 المواد الكيميائية المستعملة في التجربة:-

الشركة المنتجة	المادة الكيميائية
Biomerieux (france)	**عدة فحص الانزيم ALP kit**
Randox (united Kingdom)	**عدة فحص الانزيم ALT kit**
Randox (united Kingdom)	**عدة فحص الانزيم AST kit**
BDH (England)	**Chloroform**
Kahira (Egypte)	**Colchicine**
BDH (England)	**Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA)**
BDH (England)	**Formaline**
Sigma (USA)	**Giemsa stain**
BDH (England)	**Hydrochloric acid (hcl)**
BDH (England)	**KH_2PO_4Anhydrous**
Sigma (USA)	**Methyl blue stain**
Kyowa – Japan	**Mitomycine-c**
BDH (England)	**Na_2HPO_4 Anhydrous**
BDH (England)	**Potassium chloride (KCl)**
BDH (England)	**Potassium oxalate**
BDH (England)	**Sodium chloride (NaCl)**

3-1-2 الاجهزة والمستلزمات المستعملة في التجربة:-

الشركة المصنعة والمنشأ	اسم الجهاز
Mettler (Germany)	**Camera Digital**
Hereaus (Germany)	**Centrifuge**
Sartorius (Germany)	**Electrical sensitive balance**
Labnet (Taiwan)	**Electro phoresis cell**
Biolisa Reader (spain)	**Elisa System**
Glassco (India)	**Hot Plate**
GallenKamb (England)	**Incubator**
Jordan	**Medical syringe**
Bio Basic (Canada)	**Micropipettes**
Motic (Malaysia)	**Microscope**
QL-Lab-chicago	**Oven**
China Mheco (China)	**Slides**
Schoot (Germany)	**Soxhlet extractor**
China	**Test tube (jell)**
Labnet (USA)	**Uv-Translluminator**
Vwr (India)	**Vortex**
Labtech (Korea)	**Water bath**

2-3 طرائق العمل Methods:-

1-2-3 الحيوانات المستخدمة في الدراسة (Experimental animals):

اجريت هذه الدراسة للمدّة من بداية شهر كانون اول2013 ولغاية شهرشباط 2015،واستخدمت في هذه الدراسة 75 من ذكور الجرذ الابيض يتراوح معدل أوزانها مابين 150- 200 غرام وتراوحت أعمارها بين (10-12اسبوع),وتم الحصول عليها من البيت الحيواني لقسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة النهرين , ربيت الحيوانات في البيت الحيواني التابع الى كلية التربية – جامعة كربلاء وتركت الحيوانات لمدة اسبوعين للتأقلم تحت ظروف مختبرية من تهوية مناسبة وبدرجة حرارة (25م°) واعتمدت الاضاءة الطبيعية وجرعت فموياً 0.5 ملغم من (Sodium -Sulfadimidine) في 1 لتر من الماء ولمدة 5 أيام متتالية , و 0.5 ملغم من20 (%Ampicillin W.S.P.) في 1 لتر من الماء ولمدة 5 أيام متتالية للتأكد من خلوها من الأمراض المختلفة وتركت الحيوانات للتأقلم لمدة اسبوعين بعد ذلك استعملت الحيوانات في اجراء التجارب.

2-2-3 تحديد الجرعة المناسبة للمطفر:-

استخدمت الجرعة المناسبة من عقار MMC البالغة 2 ملغم/كغم من وزن الجسم والتي تمتلك قدرة تطفيرية ولاتصل الى الحد المميت (Vancleve *etal*., 1987) واعطيت الجرعة فموياً لحيوانات التجربة.

3-2-3 تحضير المستخلص الكحولي للنبات (plant extraction preparation):-

تم تصنيف النبات في كلية العلوم / معشب قسم علوم الحياة / جامعة بابل إذ يتبع هذا النبات العائلة البقولية كما تم تحضير المستخلص الميثانولي المائي لنبات عرق السوس حسب طريقة واخرونSato(1990) مع بعض التحوير كما يلي:

تم طحن الجذور الجافة لنبات عرق السوس و اخذ وزن معين منها وخلطت مع المذيب الذين يتكون من 20 %ميثانول مطلق % 80 : ماء مقطر ، جونس الخليط في خلاط كهربائي لمدة نصف ساعة ورشح المحلول الناتج بأستخدام قطعة قماش و وضع الراشح في فرن كهربائي

بدرجة 50 م لمدة 24 ساعة للحصول على المستخلص الجاف ،حفظ في قنينة معتمة بدرجة 4 م لحين الاستخدام.

4.2.3تصميم التجربة (Experimental Design):

لدراسة الآلية التي يعمل بها مستخلص عرق السوس أجريت ثلاث تداخلات بين المستخلص وعقار المايتومايسين – سي (MMC) (قبل Before , اثناء with , بعد after) وقسمت حيوانات التجربة الى خمس مجاميع بصورة عشوائية وبواقع (15) جرذ لكل مجموعة أي إن المجموع الكلي (75) جرذ وكالأتي:

1- السيطرة السالبة:- تم تجريعها بالماء المقطر فقط وقتلت الحيوانات بعد شهر من التجريع.

2- السيطرة الموجبة:- تم تجريعها بالمادة المطفرة المتمثلة بالمايتومايسين – سي بجرعة 2ملغم/كغم فقط وقتلت الحيوانات بعد شهر من التجريع.

3- المجموعة الثالثة:- تم تجريعها بالمستخلص النباتي بجرعة (500) ملغم/كغم من وزن الجسم قبل المادة المطفرة باسبوعين ولمدة شهر من التجريع.

4- المجموعة الرابعة:- تم تجريعها بالمستخلص النباتي بجرعة (500) ملغم/كغم من وزن الجسم مع المادة المطفرة معاً في آن واحد ولمدة شهر من التجريع.

5- المجموعة الخامسة:- تم تجريعها بالمستخلص النباتي بجرعة (500) ملغم/كغم من وزن الجسم بعد المادة المطفرة باسبوعين ولمدة شهر من التجريع.

وتم وزن الحيوانات قبل وفي نهاية التجريع وبأستخدام ميزان ذي مرتبة عشرية واحدة نوع (sartorius) كما تم تشريح الحيوانات وسحب الدم منها ووزنت الاعضاء (الكبد والكلى) بأستعمال ميزان حساس ذي اربع مراتب عشرية نوع (Sartorius) وتم قياس بعض انزيمات الكبد وبعض الهرمونات وبعض الاختبارات الوراثية الخلوية بالاضافة الى المقاطع النسجية لكل من الكبد والكلية.

5-2-3 الكشوفات الكيميائية:-

1-5-2-3 الكشف عن الكاربوهيدرات (Carbohydrates):-

1- كشف مولشMolish test:

أذيب 0.01غم من المستخلص في (5مل) من الماء المقطر , ثم وضع (1مل) من المحلول في انبوبة اختبار وأضيف اليها 5 قطرات من محلول الفا-نفثول الكحولي 1% , رجت الانبوبة جيداً واضيف اليها (0.5مل) من حامض الكبريتيك المركز , دل ظهور حلقة بنفسجية اللون على ايجابية الكشف (Saadalla , 1980).

2- كشف الفينول مع حامض الكبريتيك المركز:-

حضر كاشف الفينول بأذابة (25غم) من بلورات الفينول في (500مل) من الماء المقطر , ثم اضيف (0.5مل) من هذا الكاشف الى (0.5مل) من المستخلص في انبوبة اختبار ورجت جيداً ثم اضيف (2.5مل) من حامض الكبريتيك المركز الى المحلول , ودل ظهور اللون الاحمر البني على وجود الكاربوهيدرات (Meyer & Walther , 1988).

3-2-5-2 الكشف عن الفلافونيدات (Detection of flavonoids):-

وضع (1مل) من المستخلص النباتي في اختبار واضيف له قطرات من حامض الكبريتيك المركزH_2SO_4إذ يدل ظهور اللون البني المحمر على ايجابية الكشف (Cannell , 1998).

3-2-5-3 الكشف عن الكومارينات (Detection of coumarins):-

وضعت كمية قليلة من المستخلص الكحولي لنبات عرق السوس في أنبوبة اختبار ثم غطيت الأنبوبة بورق ترشيح مرطبة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم NaoH ووضعت في حمام مائي بدرجة الغليان لبضع دقائق بعدها عرضت ورقة التشريح إلى مصدر للأشعة البنفسجية UV .إنَّ ظهور اللون الأزرق دليل على ايجابية الكشف (الاسماعيل ، 2009) .

3-2-5-4 الكشف عن القلويدات (Detection of alkaloids):-

اتبعت طريقة Smolensk وآخرون (1972) في الكشف عن القلويدات بوضع (10غم) من المستخلص النباتي في (50مل) من الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك 4% ترك المحلول ليغلي مدة 10دقائق رشح بعدها و وضع (0.05 مل) من الراشح في زجاجة ساعة مع:

1- كاشف واكنر:-

حضر هذا الكاشف بإذابة (1.3غم) من اليوم مع 2غم من يوديد البوتاسيوم في (100مل) من الماء المقطر , دل تكون راسب بني على ايجابية الكشف.

2- كاشف ماير:-

حضر هذا الكاشف بإذابة (1.3غم) من كلوريد الزئبقوز $Hgcl_2$ في (60 مل) من الماء المقطر و 5غم من يوديد البوتاسيوم في (10مل) من الماء المقطر مزج المحلولين معاً واكمل الحجم الى (100مل) بالماء المقطر دل تكون راسب ابيض على ايجابية الكشف.

3-2-5-5 الكشف عن الصابونيات (Detection of saponins):-

تم الكشف بواسطة كاشف كلوريد ألزئبقيك HgCl وبوساطة كشف الرغوة ;Harborne,1984 (Silva *et) al*., 1998 ان ظهور الرغوة دليل على ايجابية الكشف.

3-2-5-6 الكشف عن التانينات Tannins test :

تم الكشف عن التانينات باستعمال كاشف خلات الرصاص Lead Acetate test وكلوريد الحديديك (Adedays *etal*., 2001; Jawad, 1997)

3-2-5-7 الكشف عن التربينات والستيرولات Terpenoid and Sterols test :

تم الكشف عنها بواسطة كاشف ليبرمان - بوخارد Liebermann-Burchard (Silva *etal*., 1998)

3-2-5-8 الكشف عن الراتنجات (Detection of resins):-

اعتمدت طريقة *(Shihata , 1951)* في الكشف عن الراتنجات بإضافة 50مل من الايثانول 95% الى 10غم من المستخلص النباتي ثم وضع المزيج في حمام مائي بدرجة 50م° ترك يغلي لفترة ثم رشح المحلول واضيف إليه 100مل من الماء المقطر المحمض بحامض الهيدروكلوريك 4% دل ظهور العكورة على ايجابية الكشف.

3-2-5-9 الكشف عن الزيوت الطيارة (Detecion of volatile):-

تم الكشف عن الزيوت الطيارة حسب ما ورد في Indian Herpal pharmacopeias (1998) عرضت ورقة ترشيح مشبعة بالمستخلص النباتي الى الاشعة فوق البنفسجية بدل اللون الوردي البراق على ايجابية الكشف.

3-2-6 تحضير المحاليل:-

3-2-6-1 محلول دارىء الفوسفات الفسلجي Phosphate buffer (P.B.S) solution:-

حضر المحلول بإذابة (8gm من Nacl , 0.0015mg من Na_2HPO_4, 0.2 mg من Kcl , 0.2mg من KH_2PO_4 , عدل PH الى 7.3 وعقم بالموصدة وحفظ بدرجة 4 م (Sambrook *etal.* , 2001).

3-2-6-2 المحلول المثبت Fixative solution:-

حضر بإضافة ثلاث احجام من الميثانول الى حجم واحد من حامض الخليك الثلجي واستخدم المحلول آنياً بدرجة 4م°(Allen *etal.* , 1977).

3-2-6-3 محلول واطىء الشد كلوريد البوتاسيوم Hypotonic solution kcl (0.075):-

حضر المحلول بإذابة 5.75mg من ملح kcl في 1000مل من الماء المقطر عقم بالموصدة واستخدم آنياً بدرجة 37م° (Metcalf *etal* , 1986).

3-2-6-4 محلول الكولجسين Colchicine solution:-

حضر المحلول آنياً بإذابة قرص واحد من الكولجسين ذو تركيز 500mg في 0.5ml من PBS وحقن الحيوان ب0.25 ml في التجويف الخلبي (Intraperitonail) (Allen *etal.* , 1977).

3-2-6-5 دارىءسورنسنSorenson:-

حضر بإذابة 7.68غم من $Na_2\ HPO_3$ مع 6.74غم من KH_2PO_4 في 1000مل من الماء المقطر المعقم وحفظ في الثلاجة بدرجة 4 م°(Yaseenetal , 1998).

3-2-6-6 محلول ملون أزرق المثلين Mathylen blue stain solution:-

حضرت الصبغة بمزج الواد التالية:-

- 0.3 غم من مسحوق الصبغة.
- 30 مل من الميثانول المطلق.
- 100 مل من الماء المقطر.

3-2-6-7 محلول ملون كمزا Gimsa stain solution:-

1- المحلول الخزين.

- اذيب 3.8غم من مسحوق الصبغة في 25مل من الكليسرول.
- وضع المحلول في حمام مائي بدرجة 60م° لمدة ساعتين مع الرج المستمر.
- ثم وضع في حمام مائي بدرجة 37م° لمدة نصف ساعة ثم اضيف 75مل من المثانول المطلق بالتدرج مع الرج.
- رشح المحلول و حفظ في قنينة معقمة.

2- تحضير الصبغة لصبغ الشرائح الزجاجية:

حضرت الصبغة بمزج المواد التالية:-

- 1مل من المحلول الخزين.
- 1.15مل من الميثانول المطلق.
- 0.5مل من محلول $NaHCO_3$.
- 40 مل من الماء المقطر (Allen *etal* , 1977).

3.3: جمع عينات الدم Collection of Blood:

تم سحب الدم من القلب باستخدام محاقن طبية نبيذه سعة 5 مل و وضع 3 مل في أنابيب بلاستيكية خالية من مانع التخثر بغية الحصو على الكمية الكافية من المصل وفصل فيما بعد في جهاز الطرد المركزيCentrifuge بسرعة 4000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق، وتم فصل المصل الخالي من كريات الدم الحمر بواسطة الماصة الدقيقة micropipette وقسم المصل في عدة أنابيب نظيفة ومعقمة وحفظ في حالة التجميد عند درجة حرارة -20م° في لاجة المختبر لغرض إجراء الاختبارات الفسلجية عليها لاحقا.

4.3 جمع عينات الكبد والكلية :

بعد انتهاء التجربة تم التضحية بالحيوانات بوساطة التخدير بالايثر وشرحت الحيوانات لاستئصا هذه الاعضاء ، وضعت عينات الكبد والكلية في عبوات بلاستيكية جافة ونظيفة بعد تعليمها وحفظت بمادة حافظة هي الفورمالين10 % لحين إجراء التقطيع النسجي عليها.

5.3 الدراسة الفسلجية (Physiology study).

1.5.3 قياس مستوى انزيمات الكبد:

1.1.5.3تقديرفعالية الانزيمين الناقلين لمجموعة الأمين في المصل Alanine transaminase (ALT) and Aspartate transaminase (AST)

تم قياس تركيز فعالية إنزيمي ALT،AST في مصل الدم باستخدام عدة التقدير الجاهزة Kit وعلى أساس التفاعلين الآتين:

$$\alpha\text{-oxoglutarate} + \text{L-alanine} \xrightarrow{ALT} \text{L-glutamate} + \text{Pyruvate}$$

$$\alpha\text{-aspartate} + \text{L-oxoglutarate} \xrightarrow{AST} \text{L- glutamate} \quad \text{oxoglutarate}$$

إذيعتمد تقدير فعالية الإنزيم ALT على البايروفيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة تفاعل الأنزيم مع نائي فنيل الهايدرازين.

وكذلك تم تقدير فعالية الإنزيمAST من الاوكزالوأسيتيت المتحرر من التفاعل المحفز بوساطة الأنزيم مع نائي فنيل الهايدرازين، وأجريت التجربة كما يأتي (جميع الحجوم محسوبة بالملي لتر) .

المحاليل	العينة	المحلول الكفئ
العينة (المصل) محلول الفوسفات الدارئ	0.1 ml 0.5 ml	- 0.5ml
مزجت محتويات الأنابيب جيداً وحضنت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37 م°		
محلول نائي فنيل الهايدرازين العينة (المصل)	0.5 ml	0.5 ml
مزجت محتويات الأنابيب وحضنت لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة20–25 م°		
محلول هيدروكسيد الصوديوم	5.0 ml	5.0 ml

بعد مزج محتويات الأنابيب جيداً تترك لمدة خمس دقائق في درجة حرارة الغرفة ،وبعدها يتم قياس الامتصاص لها عند الطول الموجي546 نانوميتر.

واستخدمت المحاليل في التجربة وتشمل :

1-المحلول الفوسفات الدارئ:

أ -الإنزيم ALTويتكون من الالنين (200 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

ب-الإنزيم AST ويتكون من حامض الاسبارتيك (100 mM) والفاكيتوكلوتاريت (2.0 mM) المذابين في محلول الفوسفات الدارئ (pH 7.4).

2 - محلول 4.2 نائي نايتروفنيلهيدرازين (2.0 mM) .

3 - محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 N): تم تخفيف هذا المحلول عشر مرات بواسطة الماء المقطر قبل استعماله.

4 - محلول البايروفيت القياسي (2.0 mM).

1.2.5.3 تقدير فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase (ALP) في مصل الدم:-

تم تقدير فعالية انزيم ALP باستخدام طريقة انزيمية وذلك من خلال العبوات الجاهزة من شركة Biomerieux الفرنسية استنادا الى طريقة Belfeld Goldberg& وهي طريقة لونية تستند على استخدام المادة الاساسSubstrate التي يعمل عليها انزيم الفوسفاتيز القاعديAlkaline Phosphatase اذ يضاف محلول Phenyl phosphate للمادة الاساس الى مصل الدم ويحضن التفاعل لمدة ربع ساعة في درجة 37مْ فيقوم الانزيم بتحويل المادة الاساس الى الفينول الذي يمكن الكشف عنه وتقديره كميا وذلك باضافة المحلول 4-amino-anti pyrine والذي يكون معقدا احمر اللون يعرف بالكينون وهو ذو شدة تتناسب طرديا مع فعالية الانزيم في مصل الدم(Belfield &Golderg,1971) ويمكن قراءة الامتصاصية لمركب الكينون عند طول موجي قدره 510 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي . ويمكن توضيح هذا التفاعل بالمعادلات الاتية :

$$\text{Phenyl phosphate} \xrightarrow[\text{pH}_{10}\ 37^{o}\text{C}]{\text{Alkalinephosphate}} \text{Phenol + Phosphate ion}$$

$$\text{Phenol + 4-amino-anti pyrine} \xrightarrow[\text{NaHCO}_3]{\text{K}_3\text{Fe (CN)}_6} \text{Red Quinone(Color Complex)}$$

طريقة العمل :

تتضمن طريقة العمل وضع 2 مليلتر من المحلول المنظم كاربونات – بيكاربونات الصوديوم بتركيز 50 mmol/l وبدالة قاعدية 10 المحتوى على المادة الأساس فوسفات الفنيل الثنائية الصوديوم 5 mmol/l في إنبوبةإختبار في حمام مائي بدرجة 37 درجة مئوية مدة 5 دقائق بعد ذلك يضاف اليها 50مايكروليتر من مصل الدم ثم تمزج وتترك في الحمام المائي مدة 15 دقيقة . بعدها يضاف 0.5 مليلتر من كاشف 4- أمينو انتيبايرين.6mmol/ L وصوديوم ارسينت 70 g/l ويمزجان جيداً ، اما بالنسبة لمحلول الكفء يضاف 50مايكروليتر من الماء المقطر بدل المصل ثم توضع جميع الانابيب في مكان مظلم ولمدة 10 دقائق اذ يتكون لون وردي يميل إلى الأحمرار ذو شدة تتناسب طرديا مع تركيز الانزيم في مصل الدم . تقاس شدة اللون عند طول موجي 510 نانوميتر مقابل محلول كفء ومحلول قياس 500مايكروليتر من المحلول القياسي .

الحسابات :

تم حساب فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي في العينة وفق القانون الاتي :

$$\text{Activity of enzyme} = \frac{\text{OD serum sample} - \text{OD serum blank}}{\text{OD standard}} \times n \ (\text{UL})$$

n=142

2.5.3 قياس مستوى بعض الهرمونات :-

استعملت طريقة فحص الامتصاص المناعي لوصلة الانزيم (Elisa) (Enzyme – Linked immunoabsorbent assayوالتي وصفت من قبل (Wistom , 1976 ; Uotila , 1981) لقياس معايير الدم الهرمونية الاتية (LH , T3 , T4 , T).

طريقة العمل (Proceduce):

1- يضاف (25-100) مايكرولترUI (كل حسب طريقته) من المحاليل القياسية ذات الدلالة وبتراكيز وحدات مختلفة والنموذج والسيطرة في حفر الصفيحة ذات المعايير الدقيقة.

2- يضاف (100) مايكرولترUI من الكاشف الانزيم الرابط (نفس الاضافة لجميع طرق عمل الهرمونات).

3- يتم الخلط بدقة لمدة (10-30)ثانية ويتم الحضن في درجة حرارة الغرفة (18-25) درجة مئوية او في الحاضنة ضمن هذه الدرجة من (60-120) دقيقة (كل حسب طريقة عمله).

4- يتم إزالة الخليط المحضون من الحفر بواسطة النقر بالاصبع او بأجهزة خاصة لسحب هذا الخليط وتغسل الصفيحة ذات المعايير الدقيقة خمس مرات بالماء المقطر.

5- تدق الصفيحة ذات المعايير الدقيقة بشدة على ورق مجفف او ممتصة paper towels or absorbent paper لإزالة قطرات الماء المتبقية.

6- يضاف (100) مايكرولتر UI من المادة الاساس (اضافةثابتة في كل طرق العمل)ثم يمزج بلطف لمدة (5-10)ثانية (كل حسب طريقة عمله) والحضن في درجة حرارة الغرفة وفي مكان مظلم لمدة (20) دقيقة.

7- يضاف (100) مايكرولترUI من محلول إيقاف التفاعل (stop solution (1N HCL والاضافةثابتة في كل طرق العمل.

8- الخلط بلطف لمدة (30) ثانية (ثابتة لكل طرق العمل) وان هذه المرحلة مهمة جداً ويجب عملها بالضبط لإتمام تغيير كل اللون الازرق الى اللون الاصفر.

9- يتم قراءة الامتصاصية على طول موجي (450nM) وخلال (15) دقيقة.

10- يتم ترتيب المنحني القياسي بواسطة رسم العلاقة بين الامتصاصية والتراكيز القياسية ذات الدلالة وبوحدات مختلفة لكل هرمون.

11- يتم استخراج قيمة مستوى كل هرمون من هذه الهرمونات من المنحني القياسي الخاص بكل هرمون.

6.3 الدراسة الوراثية الخلوية (Cytogenetic study):-

1.6.3 تحضير كروموسومات خلايا نقي العظم:-

تم تحضير كروموسومات نقي عظم الجرذان حسب (Tolliver & Robbins , 1991) لحصر الاختلالات الكروموسومية ومعامل الانقسام وكما يلي:-

1- حقن الحيوان قبل القتل بثلاث ساعات بـ0.25 ml من الكولجسين في الغشاء البريتوني (intraperitoneal membrane).

2- خدر الحيوان بالايثر ثم ثبت طبق التشريح وغسلت الاطراف السفلى بالايثانول 70% , تم عمل شق أسفل التجويف البطني واستخراج عظم الفخذ ونظف من بقايا العضلات ثم قطع طرفي العظم.

3- أفرغت محتويات العظم بأستخدام 3 ml من محلول كلوريد البوتاسيوم KCl المحضر انياً بدرجة حرارة 37م° في انبوبة اختبار.

4- حضنت الانابيب بدرجة حرارة 37م° لمدة ربع ساعة من الرج.

5- نبذت الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة دقيقتين.

6- أهمل الرائق ورجت الانابيب بلطف ثم عوملت بـml2 المحلول المثبت البارد المحضر آنياً على شكل قطرات تنساب على جدران الانبوبة مع التحريك المستمر لمنع تكتل الخلايا ثم تركت الانابيب لمدة 30 ثانية بوضع عمودي.

7- نبذت الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة دقيقتين.

8- أهمل الرائق ورجت الانابيب بلطف وأضيف المحلول المثبت كما في الخطوة (6).

9- نبذت الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة دقيقتين.

10- أهمل جزء من الرائق وأضيف ml1 من المحلول المثبت.

11- تم تقطير الخلايا على شرائح زجاجية على ارتفاع مناسب 75سم.

12- تركت الشرائح لتجف ثم صبغت بصبغة كمزا لمدة 13 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر.

13- تم فحص الشرائح يالعدسة الزيتية100x , ولحساب معامل الانقسام إذ تم تقديره حسب المعادلة الاتية:-

معامل الانقسام (%) = (عدد الخلايا المنقسمة ÷ العدد الكلي للخلايا) 100x (Stich & Sana , 1981).

2.6.3 تحضير الخلايا الجنسية (النطف) لذكور الجرذان:-

تم تحضير الخلايا الجنسية حسب (Coles وآخرون , 1980) وكما يأتي:-

1- خدر الحيوان بالايثر وثبت على طبق التشريح , قص الجلد أسفل التجويف البطني واستخرجت الخصيتان البربخ.

2- تم ازلة الغلالة البيضاء وهرس البربخ في قطرات من PBS ثم عملت مسحة شريحية وتركت لتجف في الهواء.

3- ثبتت المسحة بقطرات من الميثانول المطلق لمدة دقيقتين.

4- صبغت بصبغة أزرق المثلين لمدة 13 دقيقة ثم غسلت الشرائح بـPBS.

5- تركت الشرائح لتجف ثم فحصت بالمجهر على قوة 40X لحصر التشوهات في رؤوس النطف لكل 1000 خلية.

7.3 الدراسة النسجية (Histological study):-

حضرت المقاطع النسجيةإعتماد على الطريقة الموصى بها من قبل Humason (1997) إذ تم ازالة المثبت عن طريق غسل العينات بكحول أثيلي بتركيز 70% حتى زوال اللون الاصفر ثم أجريت الخطوات الآتية:-

1- الانكاز (Dehydration):-

مررت العينات بتراكيز تصاعدية من الكحول الأثيلي 70% , 80% , 90% , 100% ولمدة ساعتين لكل تركيز لغرض سحب الماء الموجود داخل النسيج.

2- الترويق (Clearing):-

تم الترويق بوضع العينات في محلول الزايلين لمدة ساعتين لجعل العينات اكثر شفافية.

3- الارتشاح (Infiltration):-

بعد الانتهاء من الترويق نقلت العينات الى قناني حاوية على شمع البارافين (Parafin wax) ذي درجة انصهار 55 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة في فرن كهربائي درجة حرارته 59-60م° بعدها نقلت الى قناني أخرى حاوية ايضاً على شمع البارافين المنصهر داخل الفرن.

4- الطمر (Embedding):-

تم طمر العينات بنوع الشمع المستعمل في عملية الارتشاح نفسه إذ سكب الشمع المنصهر في قالب خاص , ثم نقلت العينات الى القالب لغرض تقطيعها الى مقاطع نسجية رقيقة وثبتت العينات بوساطة إبرة ساخنة بعد ذلك برد القالب بسرعة بوساطة الماء البارد.

5- التقطيع (Sectioning):-

تم تثبيت القالب في جهاز التقطيع , وتم تحضير شرائح زجاجية نظيفة وضعت عليها مادة لاصقة (Mayers albumin) , وقد حملت أشرطة المقاطع على هذه الشرائح بعد أن وضعت في حمام مائي بدرجة حرارة 56م° لغرض فرش النسيج ولمدة دقيقتين , بعد ذلك تركت الشرائح لتجف على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة.

6- التصبيغ (Staining):-

وضعت الشرائح الزجاجية في محلول التولوين (toluene) لمدة نصف ساعة لإزالة شمع البارافين من العينات , وقد مررت الشرائح في سلسلة تنازلية من الكحول الاثيلي وبتراكيز 100% , 90% , 80% ولمدة 10 دقائق , بعدها مررت في الماء المقطر لمدة 5 دقائق ثم وضعت في محلول صبغة الهيماتوكسلين لمدة 5-10 دقائق بعد ذلك غطست بالماء المقطر أربع مرات ومن ثم بالكحول الحامضي مرتين بعدها غسلت بماء الحنفية الجاري ولمدة خمس دقائق و وضعت في صبغة الآيوسين لمدة 15-30 ثانية ثم غطست بماء الحنفية 5-7 مرات , مررت الشرائح بعد ذلك بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي وبتركيز 70% , 80% , 90% , 100% ثم وضعت في محلول الزايلين لغرض الترويق.

7- التحميل (Mounting):-

تم استخدام وسط التحميل بلسم كندا (Canada – balsam)م وضعت الشرائح الزجاجية على صفيحة ساخنة بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة لغرض التجفيف.

8- التصوير المجهري (Microphotography):-

تم تصوير المقاطع النسيجية بأستخدام مجهر ضوئي نوع (MEIJI Light microscope) مزود بكاميرا مجهر (Digital camera) نوع (Canon) عالية الدقة.

8.3 التحليل الاحصائي :-

حللت النتائج بإستعما التصميم تام العشوائية Completely Randomized Design وقد تم استخدام اختبار دنكن المعد Revised LeastSignificant Differences (L.S.D) لاختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات (الساهوكي ووهيب، 1990).

الفصل الرابع
النتائــج
Results

الفصل الرابع

النتائج (Result)

1.4 الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة للمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس.

وجد إن المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس يتكون من عدة مركبات كيميائية كما موضح في الجدول (1-4).

الجدول (4-1):الكشوفات الكيميائية للمستخلص الكحولي لجذور نبات عرق السوس.

المادة	الكشف المستخدم	النتيجة
الكاربوهيدرات	الفينول مع حامض الكبريتيك المركز كاشف مولش	+
الفلافونيدات	هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي حامض الكبريتيك المركز	+
القلويدات	كاشفماير كاشف واكنر	+
الزيوت الطيارة	UV	+
الصابونيات	كلوريد الزئبقيك وكشف الرغوة	+
الراتنجات	ايثانول + ماء محمض ب4%HCL	+
الكومارينات	UV + NaOH	+
التانينات	خلات الرصاص وكلوريد الحديديك	–
التربينات والسترولات	ليبرمان - بوخاردLiebermann-Burchard	–

(+) تشير الى ان الكشف موجب اي وجود مواد فعالة

(-) تشير الى ان الكشف سالب اي عدم وجود مواد فعالة

2.4 التغيرات العيانية والمظهرية في ذكور الجرذ الابيض.

أدت المعاملة بعقار المايتومايسين – سي الى حدوث تغيرات في سلوكية ذكور الجرذ كفقدان الشهية وتغيرات مظهرية مثل تحول لون الجلد الابيض الى اللون الاصفر الشاحب وتساقط الشعر وتحول لون الادرار الى لون بني غامق.اما عند المعاملة بمستخلص جذور عرق السوس ولمدة 30 يوماً تحول لون إدرار الحيوانات من اللون البني الغامق عند المعاملة بالعقار الى اللون الاصفر الطبيعي عند المعاملة بالمستخلص النباتي كما عادت شهية الحيوانات الى تناول العليقة مقارنة عند المعاملة بالعقار.

3.4التغيرات الوزنية:-

1.3.4 التغيرات في وزن الجسم الكلي:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في وزن الجسم لذكور الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين – سي بتركيز 2ملغم/كغم مقارنة مع وزن الجسم لمجموعة السيطرة السالبة وتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز (500) ملغم / كغم من وزن الجسم ولثلاثة تداخلات (قبل،مع،بعد)العقار حصول إرتفاع معنوي ($P<0.05$) في وزن الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة. الجدول (4-2).

جدول(2-4):تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على وزن الجسم لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات

المعاملة	وزن الجسم (g) M ± SE
السيطرة السالبة	273 ± 26.36 AC
السيطرة الموجبة	209 ± 48.27 B
المستخلص قبل المطفر	281 ± 25.59 AC
المستخلص مع المطفر	309 ± 18.50 AD
المستخلص بعد المطفر	231± 29.66 BC

- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

M : المعدل SE: الخطأ القياسي n=15

2.3.4 التغيرات الوزنية في أوزان الكبد:-

أشارت النتائج الى وجود إرتفاع معنوي ($p< 0.05$) في وزن الكبد لمجموعة ذكور الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين – سي مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة السالبة وتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز (500) ملغم / كغم من وزن الجسم (قبل،بعد) العقار ادت الى حصول إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة اما المعاملة بالمستخلص مع العقارفلم تظهرفروقات معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة .الجدول(4-3).

3.3.4 التغيرات الوزنية في أوزان الكلى:-

أظهرت نتائج الدراسة عدم وجود فروقات معنوية ($P< 0.05$) في أوزان الكلى لذكور الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين – سي بتركيز 2ملغم/كغم من وزن الجسم مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة السالبة وتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز (500) ملغم / كغم من وزن الجسم (بعد) العقار

ادت الى حصول إرتفاع معنوي (P< 0.05) اما المعاملة بالمستخلص (قبل،مع)العقارفلم تظهر فروقات معنوية في وزن الكلى مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة .الجدول(4-3).

جدول (4-3):تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على وزن الكبد والكلية لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات

المعاملة	وزن الكبد(mg) M ± SE	وزن الكلية(mg) M ± SE
السيطرة سالبة	10.12 ± 0.67 A	1.10 ± 0.29 AB
السيطرة موجبة	11.82 ± 1.11 B	1.18 ±0.25 AB
المستخلص قبل المطفر	9.48 ± 0.58 A	0.92 ± 0.19 A
المستخلص مع المطفر	12.58 ± 0.60 B	1.20 ± 0.29 AB
المستخلص بعد المطفر	8.92 ± 0.40 A	1.56 ± 0.46 B

- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

M : المعدل SE: الخطأ القياسي n=15

4.4الدراسة الفسلجية:-

1.4.4التغيرات في مستوى بعض انزيمات الكبد لذكور الجرذ الابيض.

1.1.4.4التغيرات في مستوى الإنزيم الناقل لمجموعة الامين (AST):

أشارت نتائج الدراسة حصول إرتفاع معنوي ($P< 0.05$) في مستوى إنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMCبتركيز2 ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرةالسالبة كما اظهرت النتائج حصول إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى إنزيم (AST) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز(500) ملغم/كغم من وزن الجسم ولثلاثة تداخلات مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة كما في الجدول (4-4).

2.1.4.4التغيرات في مستوى الإنزيم الناقل لمجموعة الامين (ALT):

أوضحت نتائج الدراسة حصول إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى إنزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMC مقارنة بمجموعة السيطرة السالبةكما اظهرت النتائج حصول إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى إنزيم (ALT) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز(500) ملغم/كغم من وزن الجسم (مع،بعد) العقار اما المعاملة بالمستخلص (قبل)العقارفلم تظهر فروقات معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة كما في الجدول (4-4).

3.1.4.4التغيرات في مستوى أنزيم الفوسفاتيز القاعدي(ALP):

أشارت نتائج الدراسة الحالية حصول إرتفاع معنوي ($P< 0.05$) في مستوى إنزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMCبتركيز 2ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة كما اظهرت النتائج حصول إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في مستوى إنزيم (ALP) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز(500) ملغم/كغم من وزن الجسم (مع،بعد) العقار اما المعاملة بالمستخلص (قبل)العقارفلم تظهر فروقات معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة .الجدول(4-4).

جدول (4-4):تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على بعض المعايير الكيموحيوية لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات

المعايير / المعاملة	(U/L)AST M ± SE	(U/L)ALT M ± SE	(U/L)ALP M ± SE
السيطرة سالبة	122.4 ± 3.73 A	70.62 ± 3.83 A	128.76 ± 10.03 A
السيطرة موجبة	175.02 ± 1.99 B	49.58 ± 3.82 B	236.30 ± 24.74 B
المستخلص قبل المطفر	159.30 ± 8.57 C	45.18 ± 4.15 CB	228.90 ± 21.98 CB
المستخلص مع المطفر	151.24± 10.71 C	42.06 ± 1.39 CD	133.50 ± 37.42 A
المستخلص بعد المطفر	149.36 ± 3.50 C	34.30 ± 4.05 E	115.50 ± 3.71 A

- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

M : المعدل SE: الخطأ القياسي n=15

2.4.4التغيرات في مستوى بعض الهرمونات في ذكور الجرذ الابيض.

1.2.4.4التغيرات في مستوى هرمون الشحمون الخصوي (T):

أظهر الجدول(5-4)عدم وجود فروقات معنوية (P< 0.05) في مستوى هرمون الشحمون الخصوي لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMCبتركيز 2ملغم/كغم مقارنة مع ذكور الجرذ لمجموعة السيطرة السالبةوتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز (500) ملغم / كغم من وزن الجسم (بعد) العقار ادت الى حصول إنخفاض معنوي (P< 0.05) اما المعاملة بالمستخلص (قبل،مع) العقارفلم تظهر فروقات معنوية في مستوى هرمون الشحمون الخصوي لذكور الجرذ مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة.

2.2.4.4التغيرات في مستوى هرمون ثلاثي يوديد الثايرونين(T3):

أوضحت نتائج الدراسة وجود إنخفاض معنوي (P< 0.05) في مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMCبتركيز 2ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة وتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز (500) ملغم / كغم من وزن الجسم (مع) العقار ادت الى حصول إرتفاع معنوي (P< 0.05) اما المعاملة بالمستخلص (بعد،قبل)العقار فلم تظهر فروقات معنوية في مستوى هرمون (T3) لذكور الجرذ مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة كما في الجدول (5-4).

3.2.4.4 التغيرات في مستوى هرمون الثايروكسين(T4):

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود إنخفاض معنوي (P< 0.05) في مستوى هرمون T4 لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMC بتركيز 2ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة كما اظهرت النتائج حصول إنخفاض معنوي (P< 0.05) في مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز(500) ملغم/كغم من وزن الجسم (قبل،بعد) العقار ادت الى حصول إنخفاض معنوي (P< 0.05) اما المعاملة بالمستخلص (مع)العقار فلم تظهر فروقات معنوية في مستوى هرمون (T4) لذكور الجرذ مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة.الجدول (5-4)

4.2.4.4التغيرات في مستوى الهرمون اللوتيني (LH):

أوضحت نتائج الدراسة وجود إنخفاض معنوي (P< 0.05) في مستوى هرمون LH لذكور الجرذ المعاملة بعقار MMCبتركيز 2ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة وتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز (500) ملغم / كغم من وزن الجسم (بعد) العقار ادت الى حصول إنخفاض معنوي (P< 0.05) اما المعاملة بالمستخلص قبل العقارفقد اظهرت ارتفاع معنوي في مستوى هرمون LHبينما المعاملة

بالمستخلص مع العقار فلم تظهر فروقات معنوية في مستوى هرمون LH لذكور الجرذ مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة.الجدول (5-4)

جدول (5-4):تأثير عقار MMC والمستخلص النباتي على مستوى بعض الهرمونات لذكور الجرذ الابيض في ثلاثة تداخلات

الهرمونات / المعاملة	T M ± SE (ng/ml)	T3 M ± SE (ng/ml)	T4 M ± SE (µg/100ml)	LH M ± SE (mIU/ml)
السيطرة سالبة	0.41±0.03 A	5.50 ± 0.51 A	679.38 ±19.46 A	0.26 ±0.04 A
السيطرة موجبة	0.40±0.03 A	1.40 ±0 .03 CB	96.16 ± 3.12 B	0.08 ±0.02 B
المستخلص قبل المطفر	0.42±0.02 A	1.12 ± 0.28 B	73.26 ± 3.13 C	0.17 ±0.02 C
المستخلص مع المطفر	0.37±0.04 A	1.72 ± 0.22 C	82.42 ± 8.49 BC	0.06 ±0.02 BD
المستخلص بعد المطفر	0.27±0.03 B	1.41± .019 BC	77.64± 3.83 C	0.03 ±0.02 D

- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

M : المعدل SE:الخطأ القياسي n=15

5.4 الدراسة الوراثية الخلوية:

1.5.4 دراسة التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي عظم الجرذ.

1.1.5.4 تأثير التداخل بين المستخلص النباتي والمطفر في متوسط التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي عظم الجرذ.

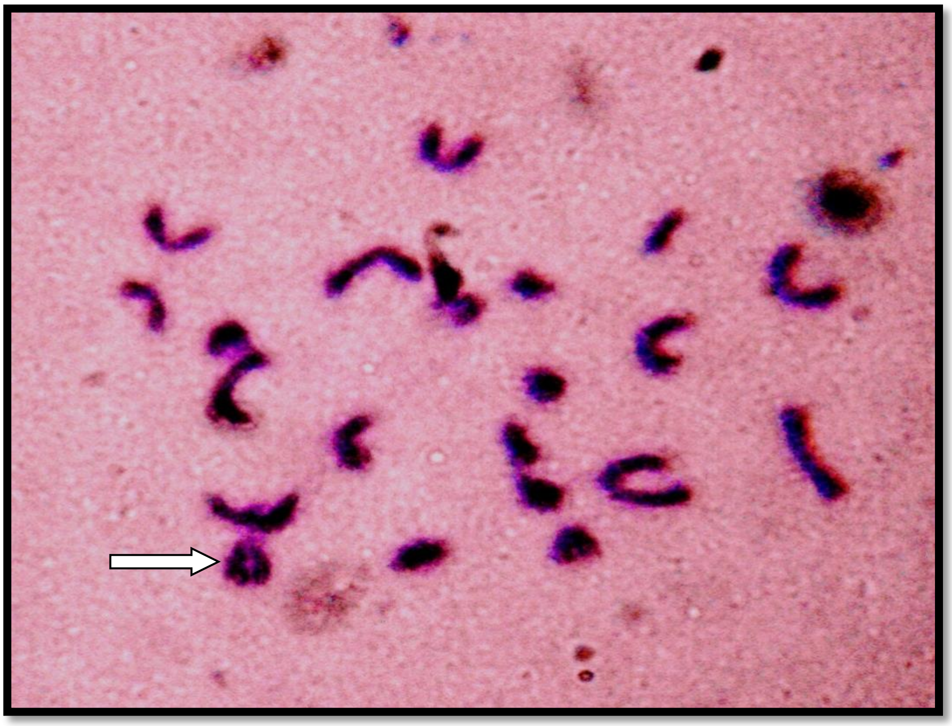
أظهرت خلايا نقي عظم الجرذ تغيرات كروموسومية مختلفة عند معاملة الحيوانات بعقار المايتومايسين وبتركيز 2 ملغم/كغم كما موضح في الجدول (4-6) إذ بلغ متوسط التشوهات الكروموسومية في حيوانات السيطرة الموجبة 35.13 مقارنة بالسيطرة السالبة التي بلغت 3.62 وبفارق معنوي (P< 0.05) , كما أظهرت التداخلات الثلاثة (قبل , مع , بعد) انخفاضا في متوسط التشوهات،حيث أدت المعاملة بالمستخلص قبل،مع المطفر الى خفض متوسط التشوهات الى18.09،23.36 على التوالي وبفرق معنوي (P< 0.05) بالمقارنة مع السيطرة الموجبة 35.13كما انها لم تصل الى متوسط التشوهات للسيطرة السالبة 3.62 اذ شكلت ايضا فرقا معنويا معها.بينما المعاملة بالمستخلص بعد العقار بلغ فيها متوسط التشوهات 32.05 ولم تظهر فروقات معنوية مقارنة بالسيطرة الموجبة.

جدول (4-6) متوسط التشوهات الكورموسومية في نقي العظم لجذكور الجرذ الابيض المعاملة بعقار المايتومايسين بجرعة 2 ملغم/كغم من المستخلص النباتي في ثلاثة تداخلات

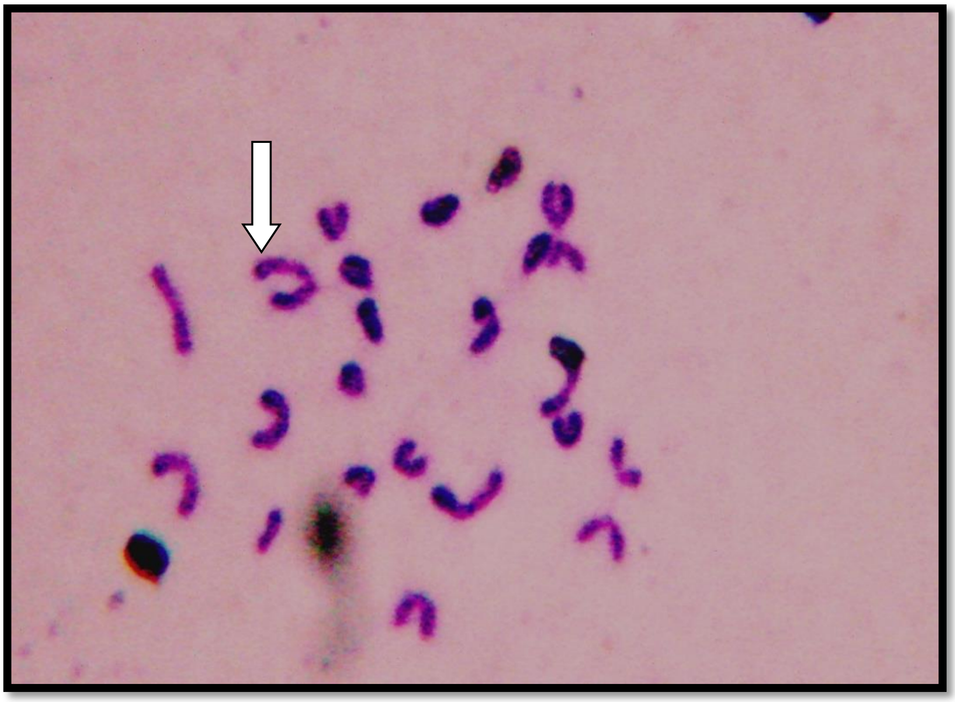
التشوه / المعاملة	الكسر الكروماتيدي M ± SE	الكسر الكروموسومي M ± SE	فرط المجموعة الكروموسومية M ± SE	الكروموسوم الحلقي M ± SE	مجموع التشوهات M ± SE
السيطرة السالبة	1.10 ± 0.01 A	0.50 ± 0.05 A	1.2 ± 1.0 A	0.82 ± 0.04 A	3.62 ± 1.3 A
السيطرة الموجبة	21.30±0.05 B	5.21 ± 0.04 BC	2.3 ± 1.0 A	6.32 ± 0.01 B	35.13 ± 7.28 B
المستخلص قبل المطفر	9.45 ± 0.05 C	6.03 ± 0.03 C	3.86 ± 0.04 A	4.02 ± 0.02 C	23.36 ± 2.30 C
المستخلص مع المطفر	9.90 ± 0.26 C	2.14 ± 0.04 AC	2.90 ± 0.04 A	3.15 ± 0.05 C	18.09 ± 5.72 CD
المستخلص بعد المطفر	13.20±0.01 C	2.34 ± 0.01 AC	13.90±0.07 B	2.61 ± 0.02 C	32.05 ± 2.02 BD

- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

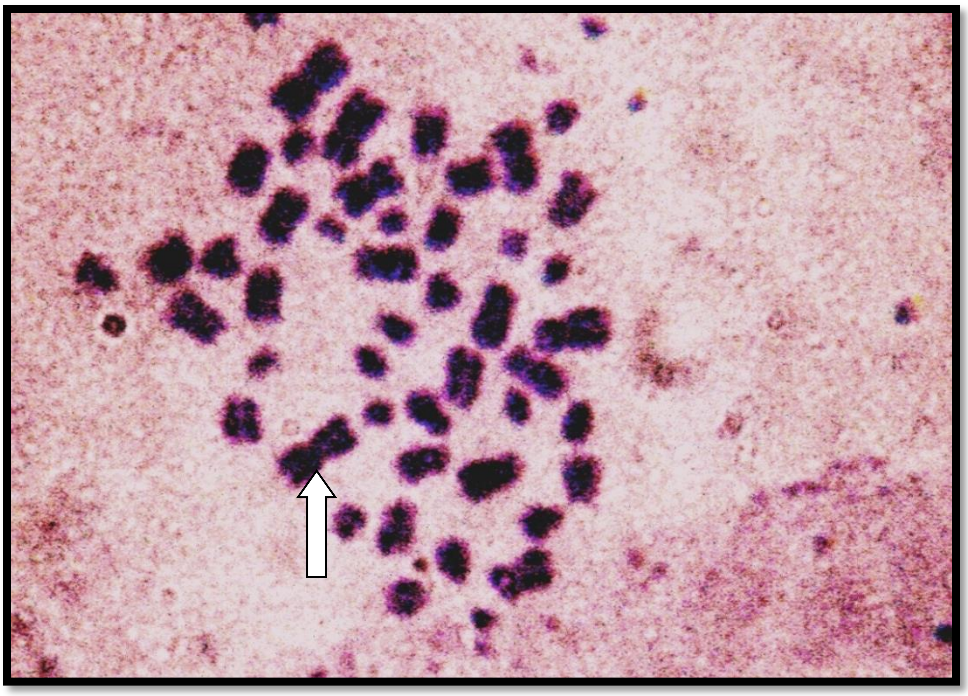
M : المعدل SE: الخطأ القياسي n=15



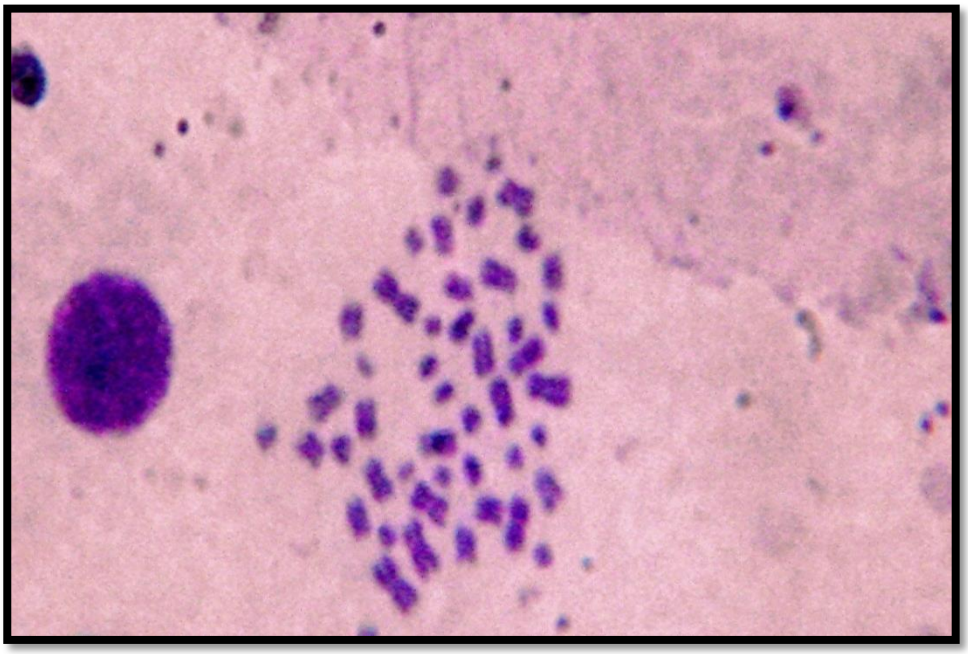
شكل(4-1) كروموسوم حلقي في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. .(قوة التكبير100X،صبغة كمزا)



شكل (4-2)كسر كروماتيدي في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. (قوة التكبير100X،صبغة كمزا)



شكل (3-4)كسر كروموسومي في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. .(قوة التكبير100X،صبغة كمزا)



شكل(4-4) فرط المجموعة الكروموسومية في الطور الاستوائي لخلايا نقي العظم لذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس. .(قوة التكبير100X،صبغة كمزا)

2.5.4 دراسة معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ.

1.2.5.4 تأثير التداخل بين المستخلص النباتي والمطفر في متوسط معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ.

يوضح الجدول (4-7) وجود انخفاض معنوي ($p<0.05$)لمعدل معامل الانقسام MI لخلايا نقي العظم للجرذ المعاملة بجرعة 2 ملغم/كغم من عقار المايتومايسين وتبين ان المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس500ملغم/كغم من وزن الجسم (قبل،مع،بعد) العقار ادت الى حصول ارتفاع معدل معامل الانقسام MI لخلايا نقي العظم للجرذ مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

جدول (4-7) متوسط معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ الابيض المعاملة بجرعة 2 ملغم/كغم من عقار المايتومايسين وجرعة 500 ملغم/كغم من المستخلص النباتي للتداخلات الثلاثة.

المعاملة	M ± SE
السيطرة السالبة	3.4 ± 0.2 A
السيطرة الموجبة	1.02 ± 0.01 B
المستخلص قبل المطفر	4.44 ± 0.02 A
المستخلص مع المطفر	6.98 ± 0.03 C
المستخلص بعد المطفر	42.56 ± 0.42 D

- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

M : المعدل SE: الخطأ القياسي n=15

3.5.4 دراسة التشوهات في رؤوس النطف لخلايا نقي عظم الجرذ:

1.3.5.4 تأثير التداخل بين المستخلص النباتي والمطفرفي متوسط تشوهات النطف لذكور الجرذ.

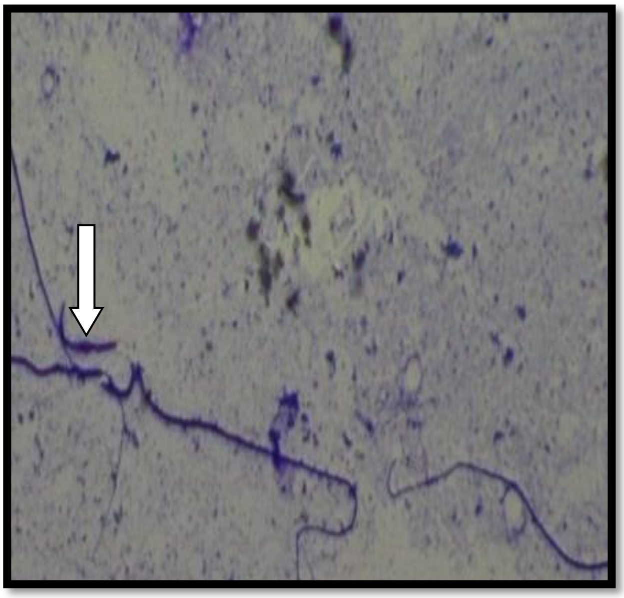
بينت نتائج الدراسة الحالية إن متوسط التشوهات في نطف ذكور الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين وبتركيز 2ملغم/كغم (السيطرة الموجبة) كما موضح في الجدول (4-8) كان مرتفع بشكل عالي المعنوية (P< 0.05) إذ بلغ 620.29من 1000خلية مقارنة مع متوسط تشوهات النطف في السيطرة السالبة الذي كان 154.78 كما اوضحت النتائج ايضاً إن معاملة تداخل المستخلص (بعد،مع)المطفر أدت الى إنخفاض متوسط التشوهات وبشكل معنوي (P< 0.05) مقارنة بالسيطرة الموجبة وكانت (508.31 ،458.30) ولم تشكل معاملة تداخل المستخلص قبل المطفر أي فرق معنوي (P< 0.05) إذ بلغ 576.83 من متوسط التشوهات عند المقارنة بالسيطرة الموجبة .

جدول (4-8) متوسط التشوهات في نطف ذكور الجرذ الابيض المعاملة بجرعة 2 ملغم/كغم من عقار المايتومايسين مع جرعة 500 ملغم/كغم من المستخلص النباتي في ثلاثة تداخلات.

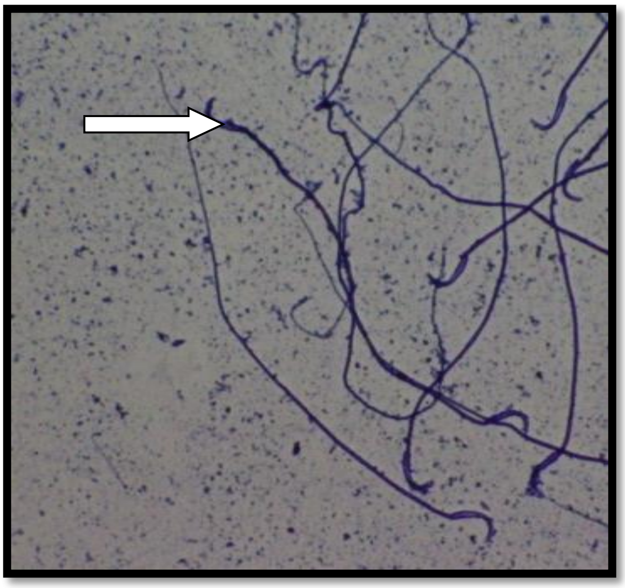
التشوه / المعاملة	منحرف كلاب الرأس M ± SE	فاقد الرأس M ± SE	فاقد الذنب M ± SE	نطفة مزدوجة الرأس M ± SE	مجموع التشوهات M ± SE
السيطرة السالبة	9.10± 0.10 A	27.10± 0.05 A	85.40±0.40 A	33.18± 0.27 A	154.78±15.1 A
السيطرة الموجبة	22.26±0.70 B	233.43± 1.0 B	329.40±1.2 B	35.20± 0.02 A	620.29±5.42 B
المستخلص قبل المطفر	12.70±0.05 AC	254.43± 0.51 B	288.63±0.6 B	21.07± 0.07 B	576.83±89.7 BD
المستخلص مع المطفر	10.60±0.30 A	199.63± 0.50 B	234.33±0.4 B	13.74± 0.58 B	458.30±97.7 C
المستخلص بعد المطفر	17.29±0.01 BC	167.33± 1.25 B	305.23±1.7 B	18.46± 0.40 B	508.31±9.22 CD

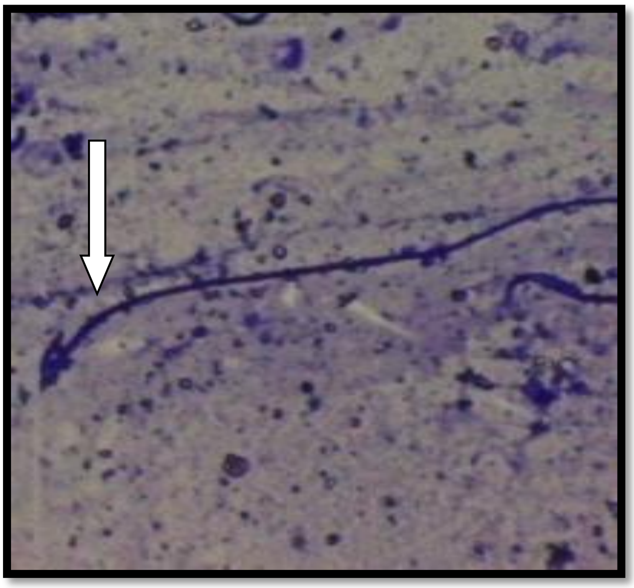
- الاحرف المختلفة باللاتجاه العمودي تدل على وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

M : المعدل SE: الخطأ القياسي n=15



(A) (B)





(C) (D)

شكل(4-5) التشوهات في نطف ذكور الجرذ المعاملة بالمايتومايسين والمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس (قوة التكبير40X،صبغة ازرق المثيلين)

(A) نطفة فاقدة للذنب. **(B)** نطفة مزدوجة الرأس.

(C) نطفة منحرفة كلاب الرأس. **(D)** نطفة فاقدة للرأس.

6.4 الدراسة النسجية:-

1.6.4 مجموعة السيطرة للكبد:

يتضح من خلال الشكل (4-6) وريد الكبد المركزي central veinوالذي يعد فرع من الوريد البابي الكبدي لا يظهر فيه إحتقان دموي congestionإضافة إلى وجود حبال الخلايا الكبدية cord of hypatocytes.

2.6.4 مجموعة السيطرة للكلى:

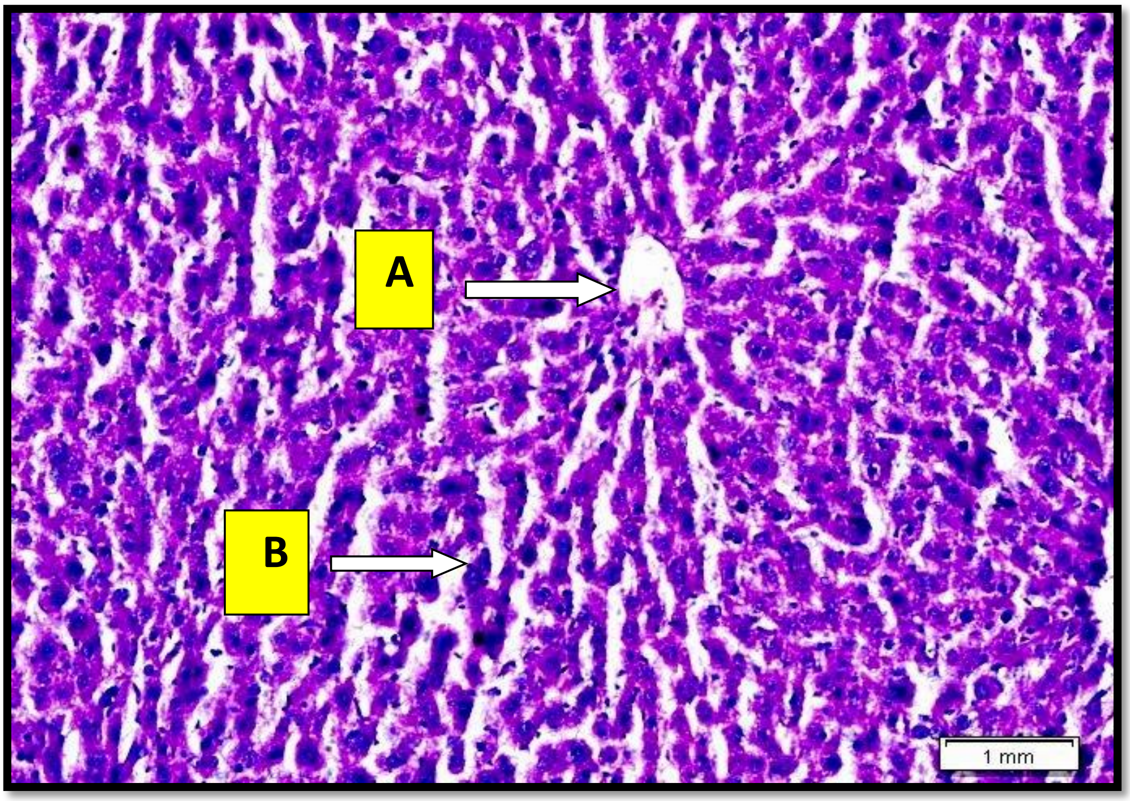
يتضح من خلال الشكل (4-7) منطقة القشرة الكلوية التي يظهر فيها فسحة بومان والكبيبة الكلوية.كما تظهرمنطقة لب الكلى .

3.6.4 التأثيرات النسجية – المرضية.

اظهرت نتائج الفحص المجهري لكبد الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين بتركيز 2ملغم/كغم ولمدة 30يوماً (السيطرة الموجبة) بالمقارنة مع السيطرة السالبة الشكل (4-8) حدوث تغيرات نسجية واضحة تمثلت بحدوث احتقان للأوعية الدموية Congestion مع تنخر للخلايا الكبدية ونوع التنخر تنخر تجلطي Coagulative Necrossis و إضافة الى حدوث إرتشاح للخلايا الالتهابية من نوع العدلة Neutrophill كما أظهرت نتائج الفحص المجهري لكلية الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين تغيرات نسجية واضحة في منطقتي القشرة واللب إذ وجد نزف دموي Hemorrhage في النسيج الخلالي الكلوي لمنطقتي القشرة واللب مع وجود تنخر Necrossis في خلايا اللمة الشعرية للكبيبات الكلوية وكذلك النبيبات الكلوية إضافة الى حدوث إرتشاح للخلايا الالتهابية وخاصة من نوع العدلة و اللمفية Neutrophill & lymphocyte كما مبين في الشكل (4-11).

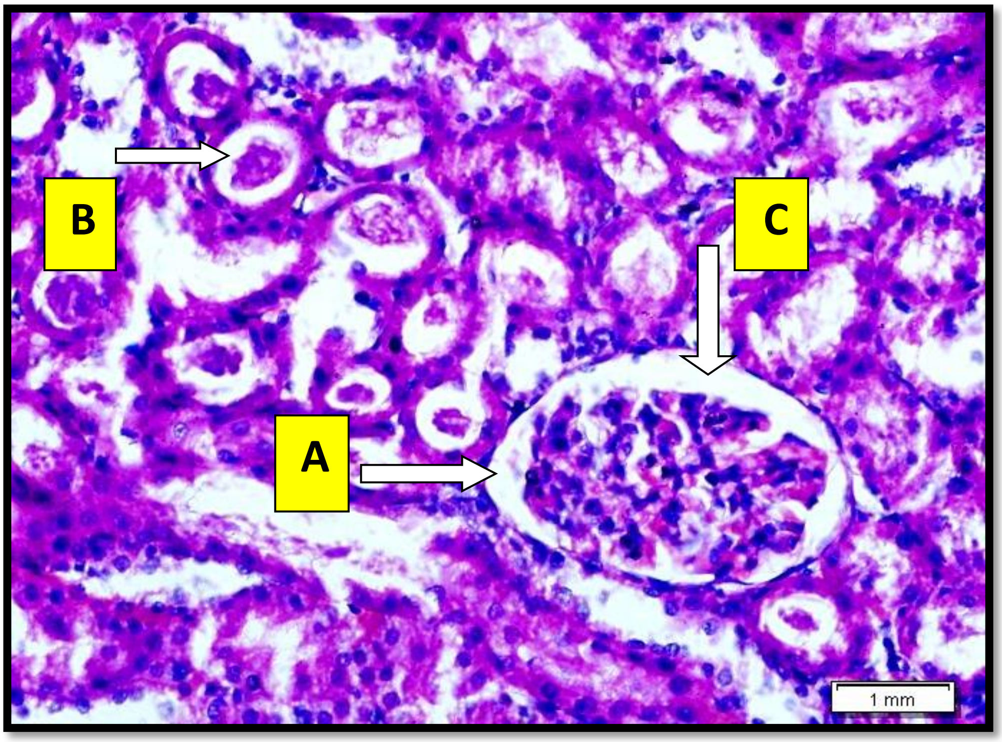
أظهرت نتائج الفحص المجهري لكبد الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500ملغم/كغم من وزن الجسم مع عقار المايتومايسين في آن واحد ظهور تغيرات نسجية تمثلت بحدوث إحتقان للاوعية الدموية مع وجود تغيرات تنكسية متمثلة بوجود فجوات Vaculation داخل سايتوبلازم الخلايا الكبدية الشكل (4-9) أما عند المعاملة بالمستخلص النباتي بعد المطفر ظهرت تغيرات نسجية منها إحتقان للأوعية الدموية إضافة الى حدوث إرتشاح للخلايا الالتهابية من نوع العدلة الشكل(4-14)،بينما عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل المطفرفقد لوحظ ظهور تحسن في نسيج الكبد إلا انه ظهر إحتقان دموي قليل للأوعية الدموية كما في الشكل (4-10). بينما أظهرت نتائج الفحص المجهري لكلية الجرذ المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500ملغم/كغممن وزن الجسم مع عقار المايتومايسين في آن واحد ظهور تغيرات نسجية منها حدوث إحتقان للأوعية الدموية مع وجود تغيرات تنكسية (التورم الغيمي) Cloudy swelling كما في

شكل(4-12) أما عند المعاملة بالمستخلص النباتي بعد المطفر ظهرت تغيرات نسجية منها إحتقان للأوعية الدموية مع وجود تغيرات تنكسية في بعض النبيبات الكلوية متمثلة بكبر حجم الخلايا المبطنة للنبيب الكلوي كما في الشكل (4-13)، أما عند المعاملة بالمستخلص النباتي قبل المطفرفقد لوحظ ظهور تحسن في نسيج الكلى إلا انه ظهر إحتقان دموي قليل للأوعية الدموية الشكل(4-15).



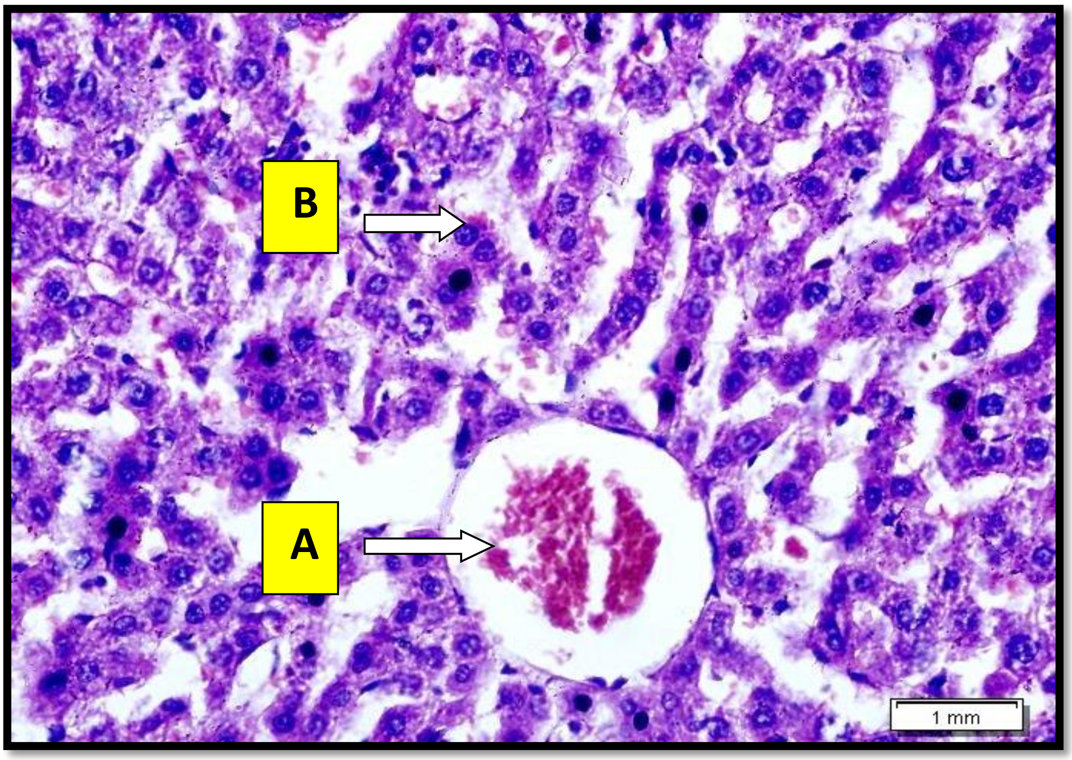
شكل (4-6) مقطع مستعرض لكبد جرذ طبيعي (200X صبغة H&E) يوضح :

A-الوريد المركزي.　　　　B-حبال الخلايا الكبدية.

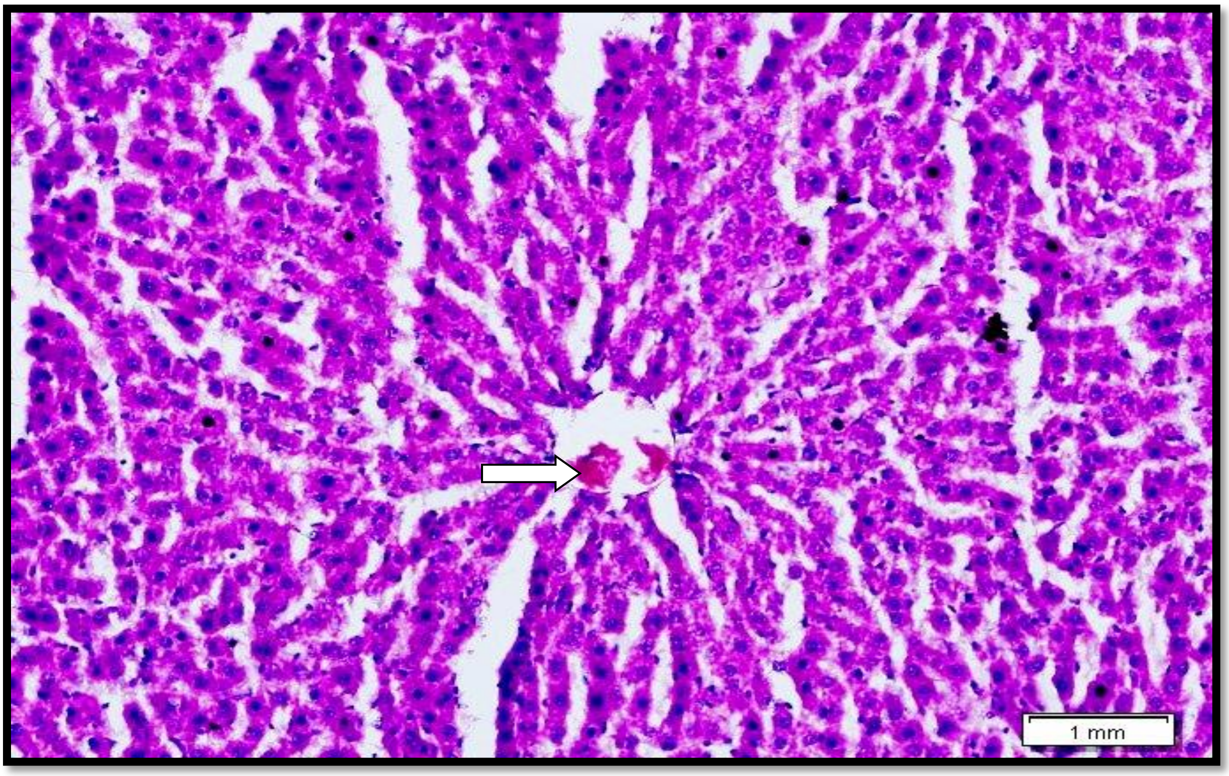


شكل (4-7) مقطع مستعرض لكلية جرذ طبيعي (200X صبغة H&E) يوضح :-

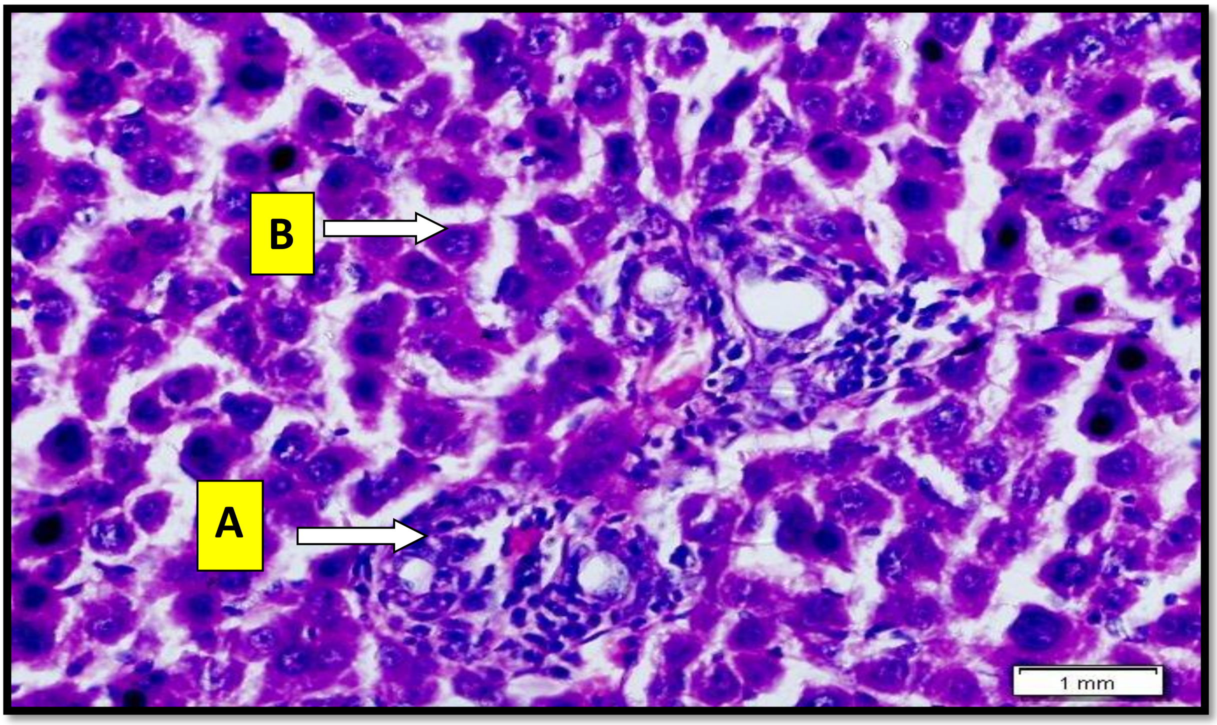
A-الكبيبات الكلوية B-النبيبات الكلوية C- فسحة بومان.



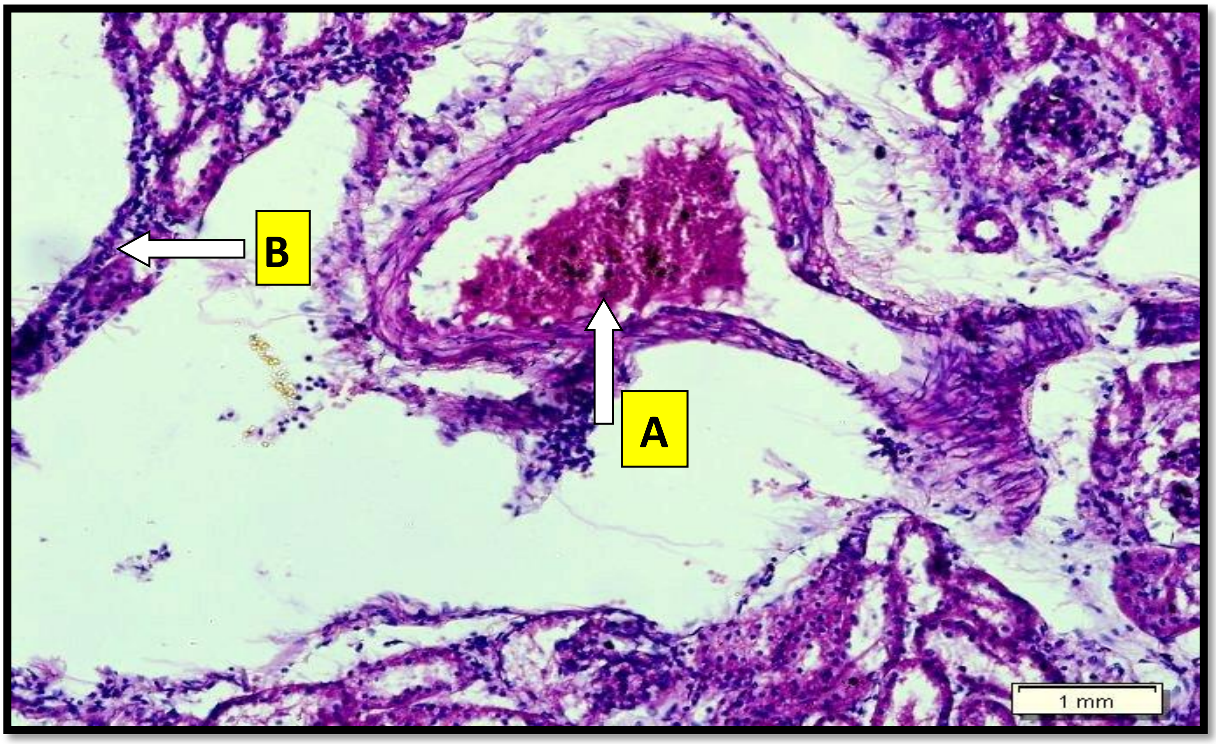
شكل (4-8) مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمايتومايسين(200X صبغة H&E) يوضح-
A-احتقان دموي في الوريد المركزي B- تنخر في الخلايا الكبدية من نوع التنخر التجلطي.



شكل(4-9) مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس مع المطفر(200X صبغة H&E) يشير السهم الى وجود احتقان دموي في الاوعية الدموية للوريد المركزي.

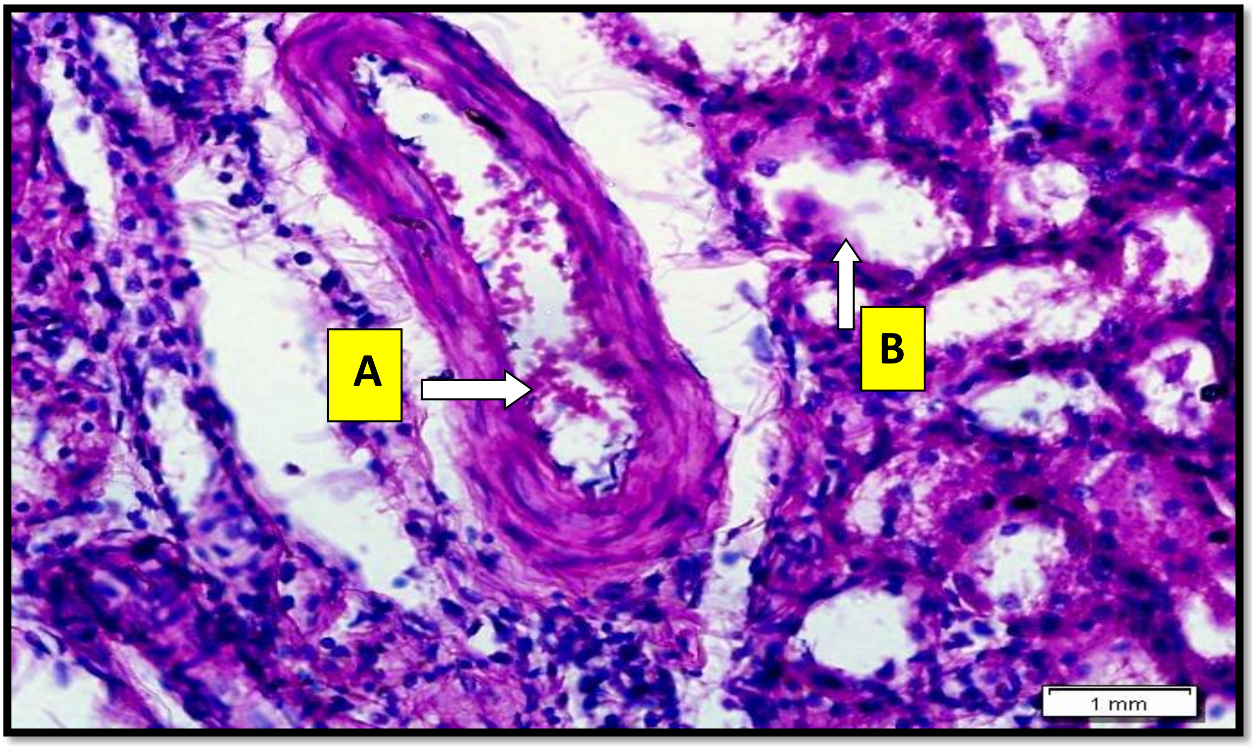


شكل (4-10) مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس قبل المطفر (200X صبغة H&E) يوضح :- A-ارتشاح للخلايا الالتهابية B- تنخر في بعض الخلايا الكبدية.

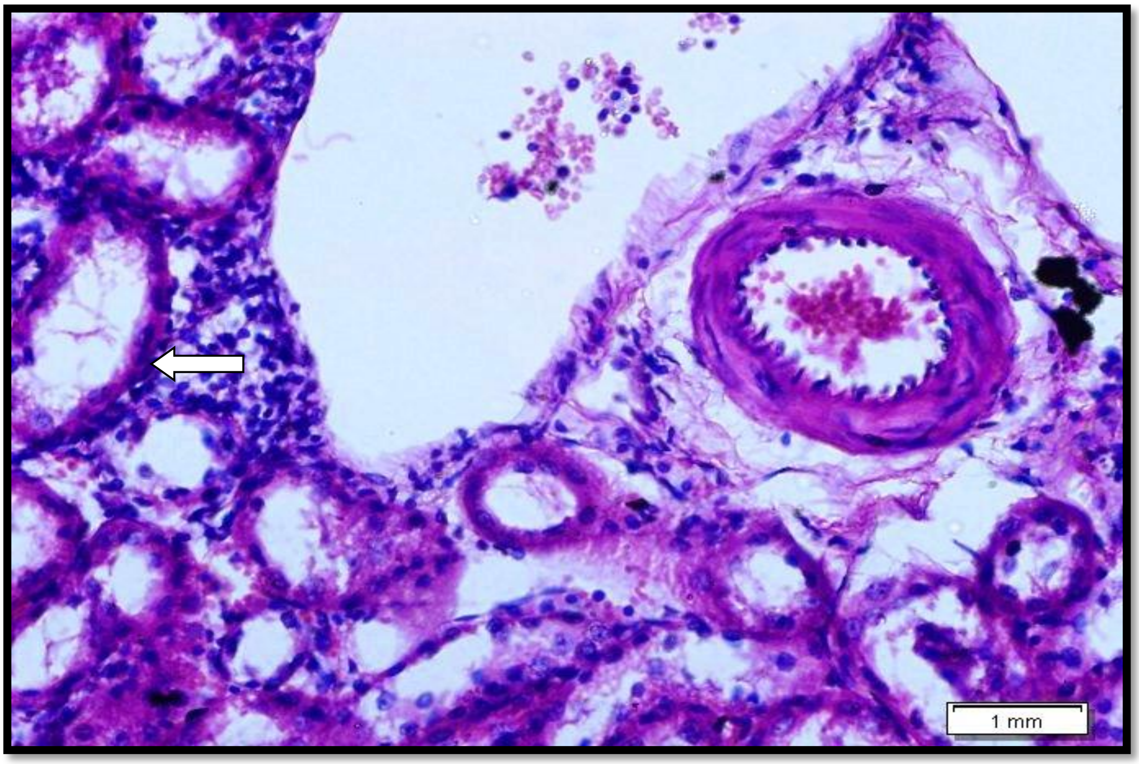


شكل (4-11) مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعامل بالمايتومايسين (200X صبغة H&E)

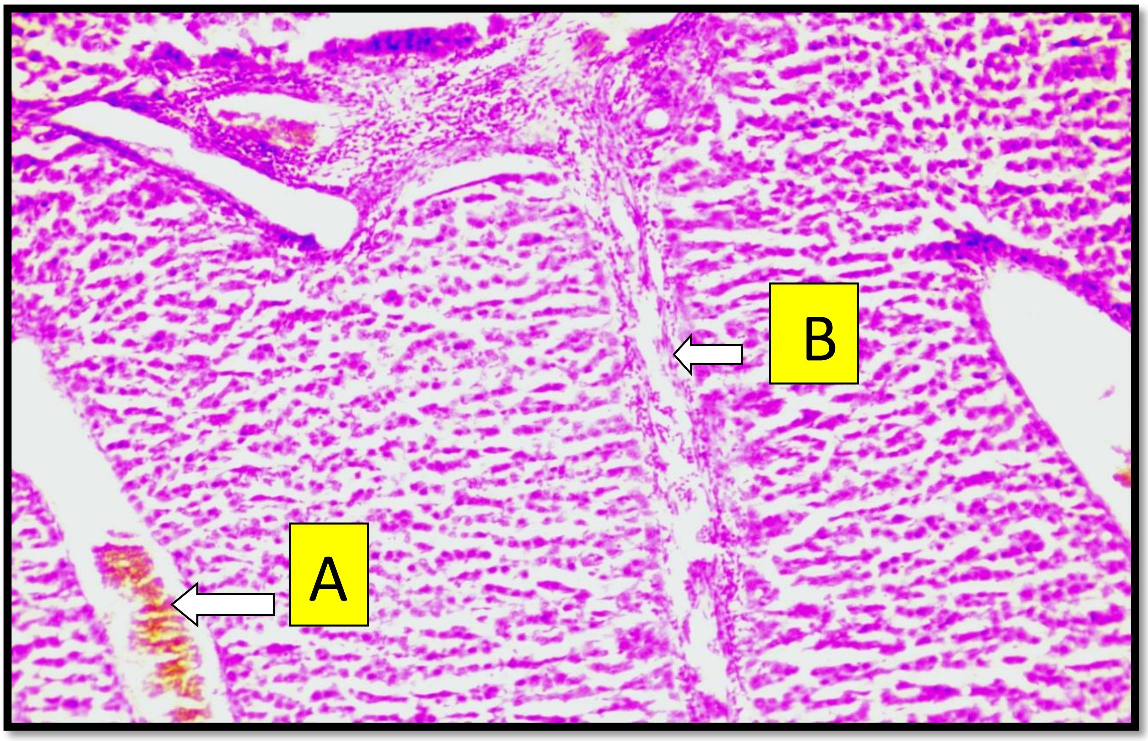
يوضح :- A- احتقان دموي في الشريان الكلوي B- وجود ارتشاح للخلايا الالتهابية



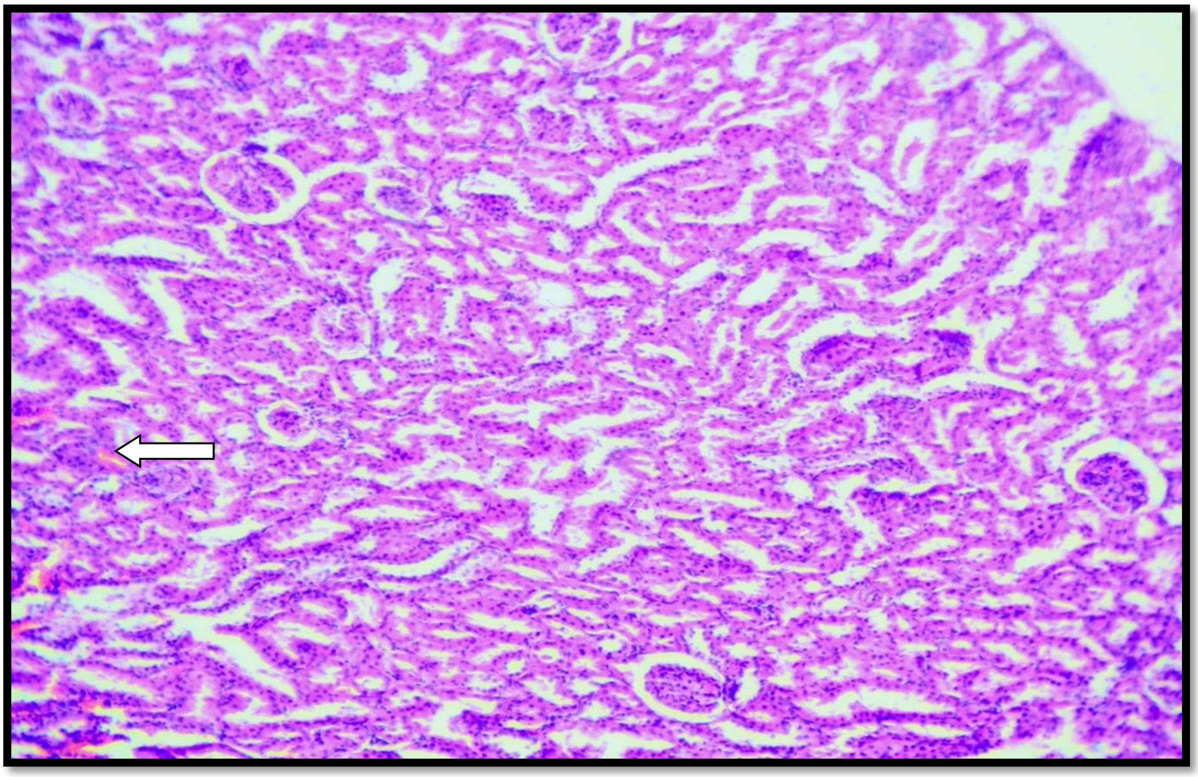
شكل (4-12) مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس مع المطفر(200X صبغة H&E) يوضح :- A-احتقان دموي في الاوعية الدموية B- وجود تغيرات تنكسية (التورم الغيمي).



شكل (4-13) مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس بعد المطفر(200X صبغة H&E)يشير السهم الى وجود تغيرات تنكسية متمثلة بكبر حجم الخلايا المبطنة للنبيب .



شكل (4-14) مقطع عرضي في نسيج كبد الجرذ الابيض المعامل بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس بعد المطفر(200X صبغة H&E) A- وجود احتقان دموي في الاوعية الدموية B- ارتشاح للخلايا الالتهابية من نوع العدلة



(4-15) مقطع عرضي في نسيج كلية الجرذ الابيض المعاملة بالمستخلص الكحولي لنبات عرق السوس قبل المطفر(200X صبغة H&E) يشير السهم الى وجود احتقان دموي في الاوعية الدموية .

الفصل الخامس
Discussion

الفصل الخامس

المناقشة (Discussion)

1.5 الكشف الكيميائي العام للمركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لجذور نبات عرق السوس.

يوضح جدول (4-1) نتائج الكشف الكيميائي للمركبات الفعالة الموجودة في المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس إذ إحتوى على عدد من المركبات الفعالة كالكاربوهيدرات والقلويدات والصابونيات والكومارينات والزيوت الطيارة والراتنجات والفلافونيدات , ويعزى سبب وجود القلويدات في المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس لأنها لها القابلية على الذوبان في الكحول ولاتذوب في الماء (قطب , 1981).

أما الراتنجات فلها قابلية الذوبان في الكحول (الشحات , 1986) وهذه النتائج إتفقت مع دراسة Tanak*a* وجماعته (1993)كما اثبت Kinoshita واخرون(2003) إن نبات عرق السوس يتكون من مركبات الكومارين ومركبات الايزوفلافونات isofla vonoid مثل glabrone و glabrene واثبتت التحاليل الكيميائية لأنواع مختلفة من نبات عرق السوس إنها تحتوي على اكثر من 300 نوع من المركبات المتعددة الفينول polyphenol والصابونيات ثلاثية التربين triterpene saponin وأنواع مختلفة من الفلافونيدات (Cheel *et al* ., 2010; Zhang &Min ,20*10)* كما أثبت Meena وآخرون (2010) إن نبات عرق السوس يحتوي على سكريات متعددة , سكريات بسيطة , بكتينات , أحماض أمينية , معادن مثل الزئبق , رصاص وكادميوم.

2.5 التغيرات الوزنية:-

1.2.5 التغيرات الوزنية في وزن الجسم الكلي لذكور الجرذ الابيض:-

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في معدل أوزان الجسم عند المعاملة بعقار المايتومايسين لمدة 30 يوماً عند مقارنتها بمعدل أوزان حيوانات السيطرة السالبة وقد يعود سبب الانخفاض في وزن الجسم الى حصول اختزال وتنخر الانسجة الحية وخاصة الانسجة الدهنية منها , كما إتفقت هذه النتائج مع ما لاحظه (Lal *etal*. , 1991) و (Lynda *etal*. , 1998) و (Suradkar *etal*. , 2010) من حصول إختزال في نهاية التجريع في أوزان الجرذان المجرعة بخلات الرصاص مقارنة بمجموعة السيطرة.

أما بالنسبة لتجريع الحيوانات بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس (قبل , مع, بعد) عقار المايتومايسين فقد بينت النتائج حدوث إرتفاع معنوي في وزن الجسم مقارنة بالمجموعة المعاملة بعقار المايتومايسين، ثبت إن عرق السوس عبارة عن مادة تزيد من سرعة جريان الدم في الاغشية المخاطية للقناة الهضمية واحتوائه على مادة الاسترولات الفاتحة للشهية وهذا يؤدي بالتالي الى استهلاك كمية من المواد الغذائية مما يؤدي الى زيادة الوزن (Goso *etal*. , 1996) .

2.2.5 التغيرات في أوازن الكبد:-

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى حصول إرتفاع معنوي ($P<0.05$) في وزن الكبد عند المعاملة بعقار المايتومايسين في ذكور الجرذ مقارنة بالسيطرة السالبة , أما عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس (قبل , بعد) المطفر فقد أشارت النتائج الى حصول إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) بينما تجريع المستخلص النباتي مع المطفرلم يظهر اي فروقات معنوية مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة كما في الجدول (4 -3).

إن هذه الزيادة في وزن الكبد تتفق مع ما جاء به (BinHafeez *etal*. , 2006 ; Raju&Bird , 2003) وقد يعود سبب هذه الزيادة الى مركبات الصابونين الموجودة في المستخلص التي تعمل على خفض تركيز الكلوكوز في الدم مما يؤدي الى زيادة بناء الكلوكوز في الكبد للتعويض عن النقص الحاصل وخزنه بشكل كلايكوجين في الخلايا الكبدية ومن ثم زيادة وزن الكبد, أما بالنسبة في حالة انخفاض وزن الكبد فقد يعود إلى إن محتوى المستخلص من مواد فعالة التي تعمل كمضادات أكسدة مما يدل على أنّ المستخلص يعمل كعامل حماية للكبد Hepato Protective agent وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي أجراها (Amin *etal*. , 2007).

3.2.5 التغيرات في أوزان الكلى:-

بينت نتائج الدراسة الحالية الى عدم حدوث فروقات معنوية في وزن الكلية عند المعاملة بعقار المايتومايسين في ذكور الجرذ مقارنة بالسيطرة السالبة كذلك الحال عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس (مع ,قبل) المطفر بينما كان هناك إرتفاع معنوي ($P< 0.05$) عند المعاملة بالمستخلص النباتي بعد المطفر مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة كما في الجدول (4 - 3).

قد يعود سبب هذا الانخفاض الى احتواء النبات على الفلافونيدات التي تعمل على زيادة فعالية الانزيمات المضادة للأكسدة في الكلية من خلال خفض الجهد التأكسدي وجاءت هذه النتيجة متفقة مع (Kevin *etal.* ,

2012) في دراسة أجراها على ذكور الجرذ الابيض التي جرعت بالمستخلص الكحولي لنبات عين البزون وبجرع (150 , 500 , 250) ملغم/كغم فقد أصيبت بأنخفاض معنوي في وزن الكلية مقارنة بالمجموعة السليمة.

أما بالنسبة للزيادة في وزن الكلية فقد يعود السبب الى مركبات الصابونين الموجودة في المستخلص التي ثبت إنها تزيد من معدل الانقسام الخلوي للخلايا وبالتالي زيادة الوزن (Francis *etal.* , 2002) فضلاً عن التركيز العالي الذي تعرضت له الحيوانات ولمدة طويلة.

3.5 الدراسة الفسلجية:-

1.3.5 قياس مستوى انزيمات الكبد (Alp , ALT , AST) لذكور الجرذ الابيض:-

تعتبر الانزيمات الناقلة لمجموعة الأمين (AST , ALT) من الانزيمات التي لها علاقة بوظائف الكبد إذ يتواجد إنزيم AST في الكبد والقلب والعضلات الهيكلية وكريات الدم الحمر والكليتين (Bennet&Plum,1996) بينما يتواجد انزيم ALT بتراكيز عالية بالكبد وبنسب أقل في البنكرياس والعضلات الهيكلية (Martein *etal.,* 1985) وعليه فأن تركيزها في الدم يعطي صورة عن مدى فعاليتها في تلك الاعضاء وخصوصاً في الكبد , أما إنزيم ALP فيوجد بشكل طبيعي في القنوات الصفراوية الصغيرة للكبد كما يوجد ايضاً في العظم , المشيمة والتراكيز المرتفعة من هذا الانزيم ربما تؤدي الى حدوث مشاكل خارج الكبد مثل السرطان (Braunwald *eatl.* , 2001)(Longmore *etal.* , 2004) ولقد بينت نتائج الدراسة الحالية حدوث إرتفاع معنوي (P< 0.05) في إنزيمي (ALP , AST) وإنخفاض معنوي (P< 0.05) في إنزيم (ALT) عند المعاملة بعقار المايتومايسين لمدة 30 يوماً و ربما يعود السبب في زيادة ALP الى إن الزيادة في مستوى هذا الانزيم ربما يؤدي الى زيادة في فعالية الجسيمات الحالة Lysosomes نتيجة لتأثير عوامل عديدة على موت الخلية cell death أو ربما بسبب تدفق الصفراء الى خارج أو داخل الخلايا الكبدية يؤدي الى حصول زيادة في تراكيز إنزيم ALP في المصل (Sastry & Agrawal , 1997) , اما بالنسبة لانزيم AST فإن تأثير سمية عقار MMC على الكبد قد يؤدي الى إضمحلال في فعالية إنزيم AST إضافة الى حدوث التنخر والالتهاب في الخلايا الكبدية تؤدي الى زيادة تركيز هذا الانزيم في مصل الدم وهذا يتفق مع ما أشار اليه(Limidi & G.M.Hude, 2003; Mihi & Gindhi , 2008) , أو قد تكون الزيادة ناجمة عن إرتفاع ضغط الدم المؤثر في انسجة الجهاز البولي التي قد تؤثر على الكبد بحدوث تلف أو إنحلال Degeneration لبعض خلايا الكبد وتسرب هذا الانزيم بعد ذلك الى الدورة الدموية وزيادة مستواه وفعاليته في مصل الدم (Choen & Leman ,

1991) وأظهرت دراسات أخرى حدوث زيادة شديدة في فعالية إنزيم AST في أمراض عديدة منها أمراض سرطان الكلية , إعتلال الكلية السكري بينما اشارت دراسات اخرى حدوث زيادة طفيفة في امراض اخرى مثل حالة الغرس الكلوي , وقد تعزى زيادة إنزيم AST الى وجود إضطرابات هضمية تؤدي الى سوء الامتصاص او لسوء التغذية وفقدان الشهية او التقيؤ والغثيان التي ترافق أمراض الجهاز البولي الحادة والمزمنة المؤدية الى اضطراب وظائف الكبد (Lee *etal.* , 1997) أو نتيجة تناول بعض الادوية كالمضادات الحيوية مثل Sulfisaxazole أو مشتقات البنسلين(Compbell *etal* , 1984) أما حدوث الانخفاض في تركيز إنزيم ALT قد يكون بسبب إن فعالية الانزيم تتناسب عكسياً مع تأثير عقار MMC داخل جسم الجرذ أي انه عند المعاملة بالعقار ينخفض تركيز إنزيم ALT في الكبد وذلك لان بعض السموم التي تدخل الجسم فوق الحد الطبيعي فإنها تعمل على خفض مستويات نشاط إنزيم ALT(Piton *etal* , 1998).

أما عند إجراء التداخل بين المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس وعقار المايتومايسين في ثلاث تداخلات (قبل , بعد , مع) فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث إنخفاض معنوي ($P< 0.05$) في إنزيم (ALT،AST،ALP) (بعد،مع)المطفر مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة بينما اشارت النتائج الى عدم وجود فروقات معنويةفي مستوى الانزيمات (ALT,ALP,AST) عند المعاملة بالمستخلص النباتي (قبل) المطفر مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة , إن هذا التباين الملاحظ في تأثير المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس على تراكيز انزيمات (ALP , ALT , AST) إنخفاضاً وإرتفاعاً قد يعود الى ما يحتويه هذا المستخلص من مركبات فعالة حيث اثبت إن مادة الكليسرايزين لها تأثير معنوي على افراز الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين (VanRoossum *etal* , 2001) كما وتعد هذه النبتة من الاعشاب التي تلعب دوراً كبيراً في زيادة كمية البروتينات في الجسم وتعتبر من الاعشاب المشجعة لعملية الهضم وبالتالي زيادة المواد الايضية داخل الجسم مثل الكلوكوز و الاحماض الامينية والاحماض الدهنية التي تؤثر بدورها على تكوين و إفراز هذه الانزيمات (Anon , 2005) إن الازدياد الملاحظ في فعالية إنزيم AST قد يكون سببه زيادة تخليق الانزيم من أجل إعادة اصلاح ما تحطم من الانسجة (SeongGill & Juchan , 2006) وكذلك تكون الزيادة الملحوظة في فعالية إنزيم ALP في عدد من الحالات ليس لها علاقة بأمراض الكبد والعظام مثل الاورام كأورام العصبات , الورم الكلوي , ورم النخاع المضاعف كذلك عند تناول بعض الادوية كالمسكنات مثل (الاسبرين و البراسيتمول) ولمدة طويلة وبجرع عالية أو للمدررات التي يتناولها ذوي الضغط المرتفع مما يؤدي لارتفاع مستوى الانزيم بالدم (Choen & Leman , 1991) وتزداد فعالية إنزيم ALP في أمراض الكبد وقناة الصفراء منها إنسداد قناة الصفراء بسبب التضيق أو الحصاة أو ورم سرطاني أو تليف خلايا قناة الصفراء وكلها ترفع مستوى فعالية الانزيم من (10-12) مرة اكثر من المستوى الطبيعي تقريباً ودلت الدراسات إن هذا الانسداد يحفز الكبد لتكوين

كميات أخرى من هذا الانزيم تدخل مجرى الدم وترفع مستوى فعاليته (Arrick & Nathan , 1974) وايضاً تعمل الشدة التأكسدية لعرق السوس على تثبيط مضادات الاكسدة الطبيعية وخاصة الكلوتاثاينون الكبدي الذي بأنخفاضه يرتفع إنزيم AST (Jayadeesan & Kavitha , 2006).

أما بالنسبة الى الانخفاض الملاحظ في تركيز إنزيم ALT قد يعود الى قدرة المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس على كبح فعل الجذور الحرة والتقليل من بيروكسدة الدهون بسبب إحتوائها على المواد المضادة للأكسدة مثل الفلافونيدات (Deiana *etal* , 2002) , وبالتالي المحافظة على اغشية الخلايا الكبدية من التحطيم وتقليل خروج الانزيمات الى مصل الدم , ويعتقد إن المكونات الفعالة الموجودة في المستخلص لها دور في حرق الطاقة من الدهون وتقليل الضرر الحاصل في الكبد نتيجة لتأثير العقار (Cai *etal* , 2004) .

2.3.5 قياس مستوى بعض الهرمونات (Testerone , T4 , T3 , LH) لذكور الجرذ الابيض:-

إن الغدة النخامية تقع في الدماغ مباشرة أسفل تحت المهاد وتتألف من جزأين النخامية الامامية anterior pituitary والنخامية الخلفية posterior pituitary , وتفرز الامامية العديد من الهرمونات والتي تقوم بتحفيز الغدد المستهدفة لانتاج الهرمونات أو تؤثر على الاعضاء بصورة مباشرة , ومن هرمونات النخامية الهرمون اللوتيني (LH) الذي يحفز انتاج هرمون التيستيرون في خلايا لايدك Leydig في الخصى وكذلك يحفز الاباضة وتكوين الجسم الاصفر وتخليق الاستروجين والبروجيسترون في المبايض والهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH) الذي يحفز تخليق و إفراز هرمونات الغدة الدرقية وهما هرمونا الثايروكسين (T4) وثلاثي يوديد الثايرونين(T3) (Guyton & Hall , 2006) , ومن خلال نتائج الدراسة الحالية بينت حصول إنخفاض معنوي (P> 0.05) في مستوى المعايير الهرمونية المتمثلة بالهرمون اللوتيني (LH) وهرموني الغدة الدرقية (T3 , T4) بينما لم تسجل فروقات معنوية في مستوى هرمون الشحمون الخصوي للمجموعة المعاملة بعقار المايتومايسين لذكور الجرذ مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة , أما عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم مع عقار المايتومايسين في ثلاثة تداخلات (قبل , بعد , مع) فقد أظهرت النتائج حدوث تذبذبا بين الانخفاض والارتفاع في مستوى هذه الهرمونات مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة , وتفسر حالة إنخفاض هرمونات الدرقية (T4 , T3) ربما يكون عائداً الى ترسب عقار MMC في انسجة الغدة الدرقية مسببة تلف الخلايا الجريبية للغدة الذي ينتج عنه حالة نقص الدرقية كما قد يعزى سبب الانخفاض في معدل تركيز هذين الهرمونين الى وجود أجسام مضادة للكلوبيولين الدرقي تعمل على تثبيط إنزيم البيدوكسديز الدرقي الذي يؤكسد اليوديد اللاعضوي الى اليود ويربط بين جزيئتين من التايروسين ثنائي اليود أو بين جزيئة تايروسين ثنائي اليود مع جزيئة تايروسين احادي اليود ضمن جزيئات الكلوبيولين الدرقي لتكوين الثايروكسين

والثايرونين ثلاثي اليود فتؤدي هذه الاجسام المضادة بالتالي الى إنخفاض في إفراز الهرمونات الدرقية (Ericsson & Lindgrade , 1991)(Vestergaard , 2002) وفي دراسة اجراها Ariyaratne وآخرون (2000) وجدوا فيها إن إنخفاض مستوى هرموني T3 , T4 يتسبب في توقف عملية تمايز وتكاثر خلايا لايدج البينية وبالتالي حصول إنخفاض في إنتاج الاندروجينات الذكرية على اساس أن خلايا لايدج هي المصدر الرئيسي لانتاج وافراز الاندروجينات الذكرية لأنواع اللبائن كافة فينخفض بذلك مستوى هرمون التيستيرون , يحفز (LH) خلايا لايدج لافراز هرمون الشحمون الخصوي المسؤول عن عملية إنتاج النطف لذا فإن سبب التنكيس يعود الى انخفاض مستويات هرمون الشحمون الخصوي الذي يعد ضرورياً جداً في دعم وإسناد وتمايز الخلايا الظهارية لجميع مناطق البربخ (Gupta *etal* , 2002) كما ويؤدي تحويل التيستيرون الى إستراديول او ما يسمى بـTesterone – Shunting إلى استمرار إنخفاض التيستيرون الحر في البلازما (Murialdo *etal* , 1995) أما التدرج الملاحظ في مستوى الهرمونات (Testerone , LH, T4 , T3) بين الانخفاض والارتفاع عن المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس فقد يعزى إرتفاع مستوى هرمون (LH) والتيستيرون وهرمون (T3) الى تأثير مركبات الفلافونات الموجودة في جذور عرق السوس من خلال تحفيز هرمونات محرضات القند في الغدة النخامية إضافة الى تأثيرها في قشرة الغدة الكظرية مما يؤدي الى ارتفاع مستويات هرمون الشحمون الخصوي كما اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه امين , (2005) في دراسة اجراها على بذور الحلبة حيث اوضحت انها تسبب ارتفاع مستوى هرمون الشحمون الخصوي في ذكور الفئران البيض , وقد تعود هذه الزيادة الى ان المستخلص قد حفز زيادة افراز هرمون (LH) المفرز من الغدة النخامية والذي يعمل بدوره على زيادة نشاط خلايا لايدك الامر الذي يؤدي الى زيادة افراز الشحمون الخصوي على تحفيز خلايا سرتولي ومن ثم تحصل زيادة في عملية انتاج النطف (Guyton & Hall , 1996), اما بالنسبة لانخفاض مستوى هرمون T4 الملاحظ عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس فقد يعود السبب الى المركبات الفعالة في المستخلص تسبب تضخم الغدة الدرقية من خلال تأثيرها على عملية تجميع الايوديد في الغدة الدرقية وبالتالي يقلل افراز هرمون الثايروكسين (Ganong , 2001).

4.5 الدراسة الوراثية الخلوية:-

1.4.5 دراسة التشوهات الكروموسومية لخلايا نقي عظم الجرذ:-

أظهرت النتائج وحسب جدول (4 - 6) إن هناك تغيرات كروموسومية مختلفة وكان معدل هذه التغيرات مرتفعاً في خلايا نقي عظم الجرذان المعاملة بجرعة 2 ملغم/كغم من الـMMC , مما يدل على التأثير السمي الوراثي للعقار في إحداث التشوهات الكروموسومية , وتتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسات سابقة والتي أشارت

الى التأثيرات السمية والتطفيرية للمطفر MMC في خلايا الفئران من خلال حث التغيرات الكروموسومية في خلايا نقي العظم للفئران (Abou – Tarboush *etal.* , 1999) وعلى الخلاف من المواد المسرطنة التي تنتج الانحرافات الكروموسومية عن طريق التداخل مع آليات التكاثف , يحث الـMMC هذه الانحرافات عن طريق شطر اشرطة الـDNA وقد لوحظ إن الكسور الكروماتينية وكسور منطقة السنترومير ربما تعود الى الفعالية الانتقائية للعقار للمناطق Heterochromatin(Natrajan & Raposa , 1975) ويمكن ان تؤثر العوامل المطفرة او المسرطنة في الكروماتيدات بعد التضاعف او في مرحلة G2 من دورة حياة الخلية مسببة كسور كروماتيدية أو كسور كروموسومية أو تؤثر في المناطق الضعيفة من الكروموسومات مسببة أنواع أخرى من التشوهات (Biswas *etal* , 2007) كما وجد ان عقار MMC وبتركيز 1ملغم/مل لم يمتلك تأثيرات مؤذية على كروموسومات الخلايا اللمفاوية للضفدع لافتقارها الى المقادير الكبيرة من الـHeterochromatin(Shah , 1975) وعموماً يعتقد إن المسلك الشائع لكثير من العوامل المطفرة يكون في قدرتها على تدمير الاجسام الحالة مع تحرر الانزيمات المحللة للـDNA التي لها القدرة على إحداث الكسور الكروموسومية والكروماتيدية (حسن, 1997).

لقد أثبتت دراسات عديدة إن العوامل المؤلكلة تحث التشوهات الكروموسومية وتعتمد نسبة التشوهات على تركيز الجرعة ويعود سبب التشوهات الى قابلية تلك العوامل على ألكلة DNA في الموقع 7–Alkylguanin أو حث الارتباط بين N^7 - G وعليه يرتفع معدل التشوهات الكروموسومية عند استخدام مركبات Isopropyl Nitrosurea , methan sulfonate (IPMS) , Methan sulfonat (MMS) داخل وخارج الجسم الحي (Natarajan , 2005 , Doak *etal.* , 2007).

تعتبر العديد من الادوية المضادة للسرطان من العوامل المطفرة والحاثة على التشوهات الكروموسومية بسبب عدم قدرتها على التمييز بين الخلايا الطبيعية والخلايا السرطانية فقد أشار Khan و آخرون (2009) إلى إن عقار Anthracycline حث التشوهات الكروموسومية وسبب زيادة في تكثف الكروماتين في الخلايا اللمفاوية للانسان بسبب حلقة الكلايكون التي يحتويها العقار في تركيبه الكيميائي والتي تتفاعل مع السكريات أو الحوامض الامينية في DNA فتؤدي الى تغيير في طبيعة الحلزون أو تتداخل مع عمليات التضاعف والاستنساخ أو يؤثر في إنزيمات التضاعف مثل Topoisomeraseii وعند إجراء التداخل بين المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز 500 ملغم/كغم (قبل،مع،بعد) المطفر لوحظ حصول إنخفاض في نسبة التشوهات الكروموسومية مقارنة بالسيطرة الموجبة.

إن إجراء التداخل بين المستخلص والمطفر MMC (قبل) يساعد في اعطاء تفسير للآلية التي تعمل من خلالها المثبطات ومدى فعاليتها المضادة للتطفير وبصورة عامة فالمثبطات التي تكون فعالة في حالة المعاملة (قبل المطفر) مثبطات مباشرة للمطفر (Desmutagens) إذ إنها تثبط عمل المطفر كيميائياً بتكوين معقد مع المادة المطفرة بصورة غير مباشرة أو زيادة إنزيمات إزالة السمية المتواجدة بصورة طبيعية في الجسم أما المثبطات التي تعمل بعد إضافة المطفر فهي تعمل على زيادة دقة عملية إستنساخ الدنا وزيادة كفاءة أنظمة الاصلاح (Ramel etal , 1986; Erbo *etal*., 1999). وعلى هذا الاساس يعد مستخلص نبات عرق السوس مثبط للطفرات تحت صنف المثبطات المباشرة بالدرجة الاولى وبالدرجة الثانية مضاداً للتطفير من الصنف الحيوي لانه كان أقل فعالية في خفض التشوهات الكروموسومية في المعاملة بعد المطفر ويمكن أن تعزى آلية التثبيط الى إحتواء المستخلص عدد من المركبات الفعالة ومنها الفلافونيدات والتي شخص لها العديد من الوظائف الحياتية المهمة إذ انها تمتلك فعالية مضادة للتطفير و الأكسدة ومحورة لفعل الانزيمات حيث تستحث هذه المركبات عمل إنزيم Glutathione – s- Transferase (GST) حيث يعد عاملاً خلوياً مهماً ضد المركبات السامة والمطفرة والمسرطنة هذا فضلاً عن إمتلاكها صفة كسح الجذور الحرة الفعالة والمتولدة من تأيض المواد المطفرة (Kettere , 1988 ; Ssamejime *etal*. , 1998; Morre *etal*. , 2003) بالاضافة الى ذلك فقد شخصت العديد من المركبات الطبيعية التي تعمل على زيادة دقة عملية تكرار الدنا وزيادة كفاءة عملية الاصلاح من خلال استحثاث الاصلاح الخالي من الخطأ مثل مركب Tannic acid وهو Hydrolytic products كما وجد إن مركبات الفلافونيدات تعمل كعوامل غالقة (Blocking ageuts) تمنع وصول المطفر الى الجزئية المستهدفة (Yang & Wang , 1993; Schimmer & Lindenbaum , 1995)إتفقت نتائج الدراسة الحالية مع العديد من البحوث فقد أثبت Alekperov, (2002) إنخفاض معدل التشوهات الكروموسومية المستحثة بمطفرات فيزيائية وكيميائية في خلايا نقي العظم للفئران المعاملة بنبات عرق السوس إن إنخفاض التشوهات الكروموسومية قد يعود الى الفيتامينات والمعادن التي يحتويها المستخلص فقد أدت المعاملة بـ 80mMm من حامض الأسكوربك (فيتامين) الى تقليل نسبة الاختلالات الكروموسومية للخلايا اللمفاوية للأنسان V79 المتسببة عن مادة Patulin (Alves *etal* , 2000) كما حفز المستخلص المائي الحار لنبات Cassia nomame أنظمة إصلاح DNA والذي أدى إلى تقليل معدل التشوهات الكروموسومية المستحثة بعقار MMC-C في خلايا مبيض الهامستر(Kadowaki *etal* , 2001). و إتفق هذا مع دراسة الخياط (1999) من إن مستخلصات نبات الشيح وعرق السوس والكجرات ثبطت التأثيرات السمية الوراثية و التطفيرية لعقار MMC على الخلايا اللمفاوية لدم الانسان وخلايا نقي العظم للفئران ويتفق ذلك ايضاً مع ما ذكره Nakamura وآخرون (1997) حول قدرة الشاي الاخضر على خفض معدل الاختلالات الكروموسومية وذلك من خلال إختبار النوى الدقيقة (Micronucleus assay) في خلايا CHO وخلايا الفئران المستحثة بحقن تلك الحيوانات

بالمطفر MMC داخل البريتون , حيث لوحظ انخفاض تكرار النوى الدقيقة بشكل واضح عند معاملة الحيوان بالمستخلص بحجم 1 مل قبل حقنه بالمطفر بحوالي ست ساعات كما أشارت دراسة تضمنت تعريض الفئران الى تراكيز وجرع مختلفة من عرق السوس الى قابلية هذه المستخلصات في تثبيط الاورام السرطانية وخصوصاً سرطان الدم في تلك الحيوانات فضلاً عن تثبيط الورم السرطاني الجلدي والتشوهات الكروموسومية في خلايا نقي العظم (Ken *etal*. , 1988). بالاضافة الى إن التغذية الفموية للكليسيرايزين تؤدي الى تثبيط سرطان البشرة الناتج عن بعض أنواع المسرطنات علاوة على إن المادة الفعالة للكليسيرايزين ذات تأثير مثبط لكثير من الاورام السرطانية كما في سرطان الكبد (Shibata , 1994; Paolini *etal* ., 1999).

2.4.5 دراسة معامل الانقسام لخلايا نقي عظم الجرذ:-

بينت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال هذه الدراسة إنخفاض قيمة معامل الانقسام MI لخلايا نقي عظم الجرذ المعاملة بجرعة 2ملغم/كغم من عقار MMC مقارنة مع السيطرة السالبة كما موضح في جدول (4 -7) وهذا يدل بوضوح على التأثيرات السمية الوراثية التطفيرية للعقار من خلال قدرته على خفض معامل الانقسام وتتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسات اخرى أشارت الى التأثيرات السمية والتطفيرية للعقار على خلايا اللبائن من خلال تثبيطه لمعامل الانقسام لخلايا نقي عظم الفئران عند استخدامه بجرعة 4 ملغم/كغم (Podder *etal*., 2008) ويعود سبب هذه التأثيرات الى فعالية العقار في القضاء على الخلايا لتداخله مع المادة الوراثية الـDNA لانه يعترض عملية التضاعف DNA Replication وتثبيط الانقسام الخيطي من خلال إرتباطه التساهمي بقاعدة الكوانين بنفس شريط الـDNA أو بين شريطي الـDNA , لذا فإن هذا الارتباط لـMMC بالـDNA هو المسؤول عن التقليل من النمو والانقسام الخيطي (Warren *etal*. , 1998) كذلك من العوامل التي تؤدي الى خفض معامل الانقسام عند استخدام العقار وبالجرعة المعتمدة فقد ذكر Benjamen & Gill (1980) إن تكون إنزيم الـpoly – ADP – ribose الضروري لاجراء عملية الاصلاح يزداد في الخلايا عند تكبير خيوط الـDNA وإن درجة تكوين هذا الانزيم تعتمد على عدد ونوع الكسور الموجودة وهذا يؤدي الى تأخير عملية الانقسام مما يعمل على خفض معامل الانقسام , تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات المماثلة التي استخدمت العقاقير المضادة للسرطان إذ سبب عقار Gentacitabine إنخفاض معامل إنقسام خلايا الفئران المعاملة كونه يؤثر على دورة حياة الخلية وإنقسامها وخاصة في مرحلة بناء الـDNA ويمنع عبور الخلية G1 الى مرحلة البناء S (Shannon *etal*. , 2006), كما سبب عقار الميثوتركسيت (MTX) نقص في إنزيم Dihydrofolate reductase والذي يعد المفتاح الرئيسي في عملية نمو إنقسام الخلايا كما و إنه يؤدي الى نفاذ النيوكليوتيدات Nucleotides والتي تعد الوحدات البنائية للـDNA والذي يؤدي الى توقف أو عرقلة إصلاح التلف الحاصل في جزيئة الـDNA (Huennkens , 1994) حيث أشار Johnston و

آخرون (2005) إن عقار الميثوتركسيت يؤثر في تثبيط عمل الانزيمات التي تتحكم في أيض البيورين purincs مما يؤدي الى تراكم الادينوسين Adenosine بالاضافة الى حدوث تلف في الجزيئة نفسها وعند إجراء التداخل بين المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس بتركيز500 ملغم/كغم (قبل،مع،بعد) عقار MMC بالجرعة المعتمدة لمعرفة الآلية التي تعمل بها مثبطات المواد المطفرة من خلال إختلاف المعاملة بين المطفر والمثبط لوحظ إرتفاع معدل معامل الانقسام إذ نجد إن المعاملة بالمستخلص (قبل،مع،بعد) المطفر قد رفع قيم MI مقارنة بالسيطرة الموجبة إن إرتفاع معامل الانقسام قد يعزى الى احتواء المستخلص النباتي على المركبات منها الكومارينات و الصابونيات والتربينات و الكلايكوسيدات والايزوفلافونات والتي أثبتت فعاليتها العلاجية (Beresford , 1999; Evans , 1999) إذ يمتلك المركب Licochalcon وهو من المركبات الفلافوونيدية الاستروجينية المشتقة من نبات عرق السوس دور في السيطرة على نمو وإنقسام الخلايا (Hsieh *etal*. , 2004) كما إن لوجود بعض المواد المحفزة لانقسام الخلايا مثل المايتوجين mitogen دور في زيادة إنقسام الخلايا إذ بينت دراسة إرتفاع معامل الانقسام للخلايا اللمفاوية المعاملة بمستخلص نبات Derris scandeus الذي ينتمي للعائلة البقولية والغني بمادة المايتوجين (Aurason *etal*. , 2007) كما إن بعض المركبات الكيميائية النباتية تعمل على تحفيز إنزيم mitogen – Activated protein (MAPK kinase) الذي يسيطر على إنقسام الخلايا ونموها (Kensler , 1997), إن استخدام المستخلصات النباتية كمواد محفزة للجهاز المناعي كان نتيجة احتوائها على مواد محفزة لانقسام الخلايا مثل Gallic acid المسؤول عن تحفيز إنقسام الخلايا اللمفاوية T , B أو احتوائها على مواد أخرى مثل B – sitosterol , Ellagic acid , ethylgallate , Chebulagc acid كما في المستخلص الميثانولي لنبات *Terminalia bellerica* الذي أدى الى زيادة معامل إنقسام الخلايا اللمفاوية للفئران (Aurason *etal*. , 2008), ووجد ان السكريات المتعددة المستخلصة من جذور نبات عرق السوس تؤدي دوراً مهماً ومحفزاً في المناعة من خلال زيادة نشاط الخلايا اللمفاوية التائية T- lymphocyte والذي عزي الى تحفيز الخلايا الجذعية (stem cells) لنقي العظم والتوثة في الفأر على الانقسام و هذا ما تدعمه الدراسة الحالية فقد إزداد معامل الانقسام الخلوي لنقي العظم والتوثة في الحيوانات المعاملة بمستخلص جذور النبات الذي يحد من الاثر السمي والتثبيطي لعقار المايتومايسين المستعمل في علاج الامراض السرطانية (Aburada *etal.* , 1983) وتشاطرهم الرأي الخياط (1999) , كما إتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسات اخرى فقد أشار George & Ghareeb (1997) . إلى إن المستخلص الكحولي الخام لبذور نبات المعدنوس يمتلك فعلاً تثبيطياً للانقسام الخلوي , فيمنع أو يقلل من عدد الخلايا الداخلة في الاطوار المختلفة من الانقسام , أو قد يطيل من فترة الطور s-phase أو يسبب تلف أو ضعف في هذا الطور (Saggoo *etal*. , 1991) كما وإتفقت مع دراسة السعدي (1997) من إن المستخلص الكحولي لنبات التمر الزهدي كان ذو تأثير أكبر في خفض نسبة التأثيرات السمية الوراثية للعقارين MMC , CP مقارنة بالمستخلص المائي لهذا النبات , ومع دراسة صيهود

(2000) في إن المستخلص الكحولي لنبات الثوم إمتلك فعالية عالية في تقليل الاثر السمي الوراثي والدمي لعقار التاموكسفين وبخصوص ما أشار اليه العبيدي (2001) فأنه لا يختلف عما ذكر سابقاً من إن المستخلص الكحولي لبذور نبات القريص إمتلك فعالية تثبيطية أكبر من المستخلص المائي لتثبيط الفعل التطفيري لعقار MMC مما يؤكد وجود مركبات بنسبة اكبر في المستخلص الكحولي عنه في المستخلص المائي , و وجدت الطائي (2005) زيادة في معدل الانقسام الخيطي لخلايا نقي عظم الفئران المعاملة بالفلافونيدات المستخلصة من نبات الكجرات و إكليل الجبل والميرامية

3.4.5 دراسة التشوهات في رؤوس النطف:-

إن الخلايا المولدة للنطف (Spermatogenic cell) تعطي أعداد كبيرة من الخلايا الجنسية التي تكون في مراحل مختلفة من دورة الخلية , كما إن تلك الخلايا تختلف في حساسيتها تجاه المواد المطفرة , و إن المادة التي تحث التشوهات في رؤوس النطف لها القدرة على احداث طفرة (Zdienicka *etal* , 1982) مما يوفر فرصة أفضل لدراسة تأثير المواد المطفرة ومدى إحداث التغيرات المظهرية عليها فقد أشارت النتائج في جدول(4 – 8) الى إرتفاع معدل التشوهات و إختلاف أنواعها منحرف كلاب الرأس , فاقد الرأس , فاقد الذنب و مزدوجة الرأس في ذكور الجرذ المعاملة بعقار MMC بجرعة 2ملغم/كغم مقارة بالسيطرة السالبة حيث إن المعاملة بعقار الـMMC تؤدي الى تكوين أنواع مختلفة من الجذور الحرة ومنها أصناف الاوكسجين الفعالة (Reactive oxygene species) التي تعمل على العديد من التشوهات في النطف وإن هذه الجذور تهاجم الغشاء الخلوي للنطف وتعمل على حث عملية أكسدة الدهون الموجودة في الغشاء الخلوي للنطف ومن ثم تغير في تركيب هذه الدهون و أخيراً تعمل على زيادة إماعية الغشاء الخلوي Fluidity للنطف (Kurpisz *etal.* , 1996) كما أوضح Griveau و آخرون (1995) إلى إن انواع الاوكسجين الفعالة (ROS) تمتلك تأثير مثبط لوظيفة المايتوكوندريا ولتخليق الـDNA , وتسبب حدوث تغييرات في هيكل الخلية و إن هذه الانواع الفعالة للأوكسجين لها تأثير مباشر على خلايا سرتولي التي تلعب دوراً مهماً في عملية تكوين النطف Spermatogenesis , وبالتالي التأثير في التركيب الخلوي لأرومات النطف spermatids وحدوث التشوهات (Hipler *etal.* , 2000) كما تعزى معظم التفاعلات الناتجة عن الجذور الحرة الى تكسر البروتين وتجمعه وتثبيط الانزيمات وبيروكسدة الدهون وبالتالي تحطم غشاء النطف (Aziz , 2000) , سبب عقار المايتومايسين تغيرات مرضية شديدة لخلايا spermatogonia في النبيبات المنوية والتي أدت الى فقدان وظيفتها في تكوين النطف , كما أثر على الانتاج اليومي للنطف وحركة النطف وعلى الصفات الفسلجية للأنسجة الحشوية الخصوية عند الجرذان

المعاملة بجرعة 2ملغم/كغم من المايتومايسين , كما أدت المعاملة بعقار Etoposid الى تثبيط إنزيم Topoisomerase عن طريق تكوين شكل ثلاثي بين العقار والانزيم و الـDNA الذي يؤدي الى قلة المجمعة الكروموسومية في الخلايا الجنسية وكان لعقاري Bleomycin , Cisplatin نفس التأثير في المرضى الذي يتلقون العلاج الكيميائي لفترات طويلة (Philip *etal.,* 2001) , وأما عند إجراء التداخل بين المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس والمطفر وعلى شكل ثلاث تداخلات (قبل،مع،بعد) لوحظ إنخفاض معدل التشوهات في نطف االجرذ مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة يمكن تفسير فعالية المستخلص النباتي بأنه يؤثر في الهرمونات المهمة لعمل الخصيتان أو عن طريق تنظيم صنع البروتين وفعالية الاصلاح في الخلايا الجرثومية , بهذه الآلية فسرت إمكانية مستخلص نبات *Chelidonium majsl* من تقليل تشوهات النطف(Biswas *etal.* , 2007) , وقد يعود السبب في قلة التشوهات الى الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص , فقد قلل نبات *Phyllanthus emblica* المضاد للأكسدة من التشوهات في النطف للفئران المعاملة بخلات الرصاص (Madhavi *etal.* , 2007) , كذلك بين القيسي (2010) إن المستخلص الميثانولي المائي لحبوب اللقاح قد أدى الى خفض نسبة التشوهات في رؤوس النطف للفئران المعاملة بالسايكلوفوسفومايد إذ أدت المعاملة بالمستخلص قبل ومع المطفر الى خفض التشوهات وبفرق معنوي عن السيطرة الموجبة , كما أفادت الطريحي (2010) إن نسبة التشوهات في رؤوس النطف للجرذان المعاملة بمستخلص جذور عرق السوس وعقار السايكلوفوسفومايد قد إنخفض لجميع التراكيز والمعاملات المستخدمة في الدراسة وكانت المعاملة بالمستخلص بعد العقار الأفضل والاقرب للسيطرة السالبة.

5.5 دراسة التغيرات النسجية المرضية:-

أوضحت نتائج الفحص المجهري لنسيج كبد الجرذان المعاملة بعقار المايتومايسين إن العقار احدث تغيرات مرضية في النسيج تمثلت بحدوث إحتقان الاوعية الدموية مع تنخر تجلطي في الخلايا الكبدية وإرتشاح الخلايا الالتهابية من نوع العدلة كما في الشكل(4 -9) وتحدث هذه التغيرات بسبب الاجهاد التأكسدي الذي يسببه العقار نتيجة تولد الجذور الحرة فهناك عدة إنزيمات مختزلة reductase enzymes يمكن ان تحفز اختزال MMC الى مواد ايضية سامة في الخلايا ومنها إنزيم NADH cytochrome – b5 reductase وهو الانزيم السائد في المايتوكوندريا والقادر على تحويل العقار الى عامل الكيلي للـDNA وتكوين الجذور الاوكسجينية (Holtz *etal.* , 2003) وتحث الجذور الاوكسجينية على تضرر الانسجة وباقي الانظمة الحياتية (Shyamala *etal.* , 2003).

أما عند المعاملة بالمستخلص النباتي مع المطفر فلم يلاحظ حصول تحسن في نسيج الكبد وجاءت هذه النتيجة متفقة مع ما أوضحه الباحثون (Komiyama etal. , 1977) من خلال دراسة اجروها على ذكور

واناث جرذان أعطيت المستخلص بجرعة 0.31 , 0.63 , 1.25 , 2.5 غم / كغم من وزن الجسم لمدة 90 يوماً عن طريق الفم إذ أدى ذلك الى ارتفاع في فعالية الانزيمات الكبدية وقد عزوا ذلك الى وجود الكليسيرايزين بتركيز عالٍ وصل الى نسبة 53% من المستخلص وبجرعة 165-334 ملغم من الكليسيرايزين /كغم من وزن الجسم معطياً دليلاً واضحاً لحدوث الاذى الكبدي.

أما عند المعاملة بالمستخلص النباتي (قبل , بعد) للعقار فقد اظهرت النتائج حدوث تحسن في نسيج الكبد تمثل بكون التأثيرات النسجية المرضية كانت اقل مما كانت عليه عند المعاملة بعقار MMC وهذا يثبت كفاءة مستخلص جذور عرق السوس في حماية انسجة الكبد والكلية من التغيرات النسجية المتسببة عن المعاملة بالعقار وخاصة التغيرات المتسببة عن الجهد التأكسدي إذ اثبت Hamza (2007) إن استخدام النبات قيد الدراسة قلل من تنخر انسجة الكبد بسبب الجهد التأكسدي المستحث في الجرذان , وقد اثبتت الدراسة الحالية ان المستخلص يمتلك خواص مضادة للأكسدة كذلك كان للمركبات المشتقة من عرق السوس وخاصة الفلافونيدات دور في حماية انسجة الكبد من تأثير المركبات السامة مثل CCL4 والافلاتوكسينات (Jeong *etal.* , 2002) كما إن للإنزيمات المضادة للأكسدة دور في إزالة سمية بعض المركبات وخاصة مضاد الاكسدة GSH أيضاً يعد تثبيط تأيض المواد السامة في الجسم من ميكانيكيات حماية الانسجة من التأثيرات الضارة وقد أثبت Kent وآخرون (2002) إن نبات عرق السوس مثبط لإنزيمات (cytochrome3A4 , Pu505 , 2B , 2C9) المسؤولة عن أيض عقار CP في الجسم , كما أشار كل من الباحثين (Rajesh & latha , 2004) إن اعطاء مسحوق عرق السوس عن طريق العلف بجرعة 1000ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة شهرين لذكور جرذان محدث فيها تسمم كبدي بواسطة رابع كلوريد الكاربون ادى الى التقليل من التغيرات النسجية موضحين سبب ذلك لتأثيره المضاد للأكسدة وتثبيطه لعملية بيروكسدة الدهون واسراعه في عملية كسح الجذور الحرة , كما جاءت هذه النتيجة متفقة مع نتائج الباحثين (Lee *etal.* , 2007) بعد اعطائهم المستخلص المائي لعرق السوس بجرعة 50 , 100 ملغم/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم كجرعة وقائية لمدة ثلاثة ايام متتالية في جرذان محدث فيها تسمم كبدي بواسطة الكادميوم إذ ادى ذلك الى تقليل النخر والتنكس الكبدي والنزف مؤكدين دور عرق السوس الوقائي لاحتوائه على الفلافونيدات ومن ضمنها Liquiritigenin فضلاً عن وجود الكليسيرايزين الذي يمتلك تأثير وقائي للكبد.

بينما أظهرت نتائج الفحص المجهري لكلى الجرذ المعاملة بعقار المايتومايسين حدوث نزف دموي في النسيج الخلالي الكلوي لمنطقة اللب والقشرة من تنخر في الكبيبات الكلوية و إرتشاح للخلايا الالتهابية كما في الشكل (4 - 11) ومن المرجح ان يكون النزف الدموي يعود الى فعالية عقار MMC المدمرة للخلايا الالتهابية الدفاعية في منطقة لب الكلى وهذا يتفق مع ما جاء به (Cohen *etal.* , 1992).

وقد جاءت النتائج مطابقة الى نتائج دراسات اخرى , حيث اشارت دراسة الى نقص إنزيم Endotheliul nitric oxide sunthatase enos والذي يؤدي الى ظهور البروتين باليوريا والتصلب الكبيبي وتليف النسيج الخلالي البيني عند حقن الحيوانات بعقار الدوكسوروبسين (yangsun *etal.* , 2013) أما عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لجذور عرق السوس (مع , بعد, قبل) عقار MMC فقد اظهرت النتائج حصول تغيرات نسجية مرضية في كلى الجرذ تمثلت باحتقان قليل للأوعية الدموية وتغيرات تنكسية في النبيبات الكلوية مما ادى الى صغر هذه النبيبات إضافة الى حدوث ارتشاح للخلايا الالتهابية لكنه اقل مقارنة بالمجموعة التي جرعت بعقار MMC فقط (السيطرة الموجبة) أي ان التحسن في نسيج الكلى كان تحسناً طفيفاً وقد يعود السبب في ذلك الى ان الكلية هي العضو المهم في تخليص الجسم من المواد السامة وكذلك هي حساسة جداً للعوامل السامة التي تسبب تلفاً كبيراً سواء في القشرة او النبيبات البولية ومحافظ بومان أو قد تسبب أضرار كلوية اخرى كما اشار الى ذلك Herber و آخرون (1989) في دارسة للتأثر المبكر للكلية بواسطة التعرض للمعادن الثقيلة في البيئة.

أما Pistacor واخرون (1981) فقد أوضحا ان اكثر المناطق النسجية تأثراً في الكلية هي القشرة إذ تعد إحدى المواقع الحساسة في الكلية وإن اول خلل يحصل للكلية يتمركز في النبيبات الكلوية القريبة من القشرة.

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

(الاستنتاجات)

(Conclusions)

1- يحتوي المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس على (القلويدات , الكاربوهيدرات , الصابونيات , الزيوت الطيارة , الكومارينات , الراتنجات , الفلافونيدات).

2- يعد المستخلص من المواد المضادة للتطفير .

3- ان المعاملة بعقار المايتومايسين له تأثيرات عيانية ومظهرية على الحيوانات وكذلك له تأثير على وزن الجسم والكبد و الكلية لذكور الجرذ الابيض.

4- أدت المعاملة بعقار المايتومايسين الى حدوث تغيرات في المعايير الهرمونية مثل هرمون الشحمون الخصوي T , T3 , T4 , LH لذكور الجرذ الابيض.

5- أدت المعاملة بعقار المايتومايسين الى حدوث تغيرات في مستويات بعض المعايير الكيموحيوية مثل AST , ALT , ALP لذكور الجرذ الابيض.

6- أظهر عقار الماتومايسين تغيرات نسجية مرضية في انسجة الكبد والكلى لذكور الجرذ الابيض.

7- أظهرت النتائج كفاءة المستخلص الكحولي لجذور عرق السوس في الحد من التأثيرات السمية لعقار المايتومايسين على ذكور الجرذ الابيض.

المصـــــادر
References

المصادر العربية

الاسماعيل ، وفيق ناصر حسن (2009). عزل وتشخيص بعض المركبات الفعالة من النبات الطبي عنب الذيب .*Solanum nigrum* L ودراسة تأثيرها في بعض الأعضاء الحيوية للجرذان المختبرية *Rattus noruigicus* . رسالة ماجستير ، كلية العلوم - جامعة البصرة .

الساهوكي، مدحت .ووهيب ،كريمة محمد .(1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب، جامعة بغداد.

أمين، هديل محمد قاسم(2005) دراسة تأثير مادتي الحلبة والكلوميمازول في المناسل الذكرية والغدة الكظرية في الفئران البيض .رسالة ماجستير .كلية العلوم-الجامعة المستنصرية.

الاوسي،زينب سعد عبد الغني.(2006) استجابة الاجزاء النباتية لنبات الحلبة السوداء للزراعة النسيجية ودراسة المادة الفعالة فيها على خلايا نقي العظم في الفئران. رسالة ماجستير، الى كلية العلوم –جامعة النهرين.

الجبوري، علي عواد والراوي، محمد عبد الله (1993). علم الادوية الطبيعية. جامعة بغداد

الخياط، بشرى محمد أمين. (1999). دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية. اطروحة دكتوراه. كلية التربية (ابن الهيثم)/ جامعة بغداد. ص 154.

السعدي،محمد حمود(1997).دراسة تثبيط الاثر التطفيري لبعض المسرطانات الكيميائية باستخدام مستخلصات التمر الزهدي.رسالة ماجستير،جامعة بغداد.

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

الشحات، نصر ابو زيد(1986). النباتات والاعشا□ الطبية.دا□ البحا□ .بيروت.

الطائي ،شذى علي شفيق (2005) .تأثير فلافونيدات بعض الانواع النباتية في الفعل التطفيري لعقا□ الميثوتركسين (MTX).وسم افلا B1.اطروحة دكتو□اه ،كلية العلوم ،الجا□عة المستنصرية.

النعيمي،ابتهال حسين□حمود (2007) .التأثيرات البايولوجية لمستخلص نبات الكبروالحميض في الخلايا الطبيعية والو□□ية للانسا□ والحيوا□. اطروحة دكتو□اه□قد□ة الى كليةالعلوم–جا□عة النهرين.

الطريحي ،□نى نجاح حسن (2010).تثبيط الفعالية التطفيرية للسايكلوفوسفو□ايد باستخدام□ستخلص جذو□ عرق السوس.□سالة□اجستير،كلية العلوم ،جا□عة بابل.

العبيدي ،ليث عبد الحسن محمد جواد (2001).التحري عن التأثير المضاد للتطفير في□ستخلصين□ن نبات القريص نوع *Urtica pilufera* في الفأ□ الابيض .□سالة□اجستير،كلية العلوم ،جا□عة الكوفة.

العبيدي،شيماء يوسف عبد الفتاح.(2008) تقييم بعض التأثيرات الو□اثية– الخلويةوالمناعية للمستخلص الكحولي لنبات القصيوم *Achillea millefolium* في خا□ج الجسم الحي (في ذكو□ الفأ□ الابيض) والزجاج (خلايا لمفية بشرية).□سالة□اجستير. كلية العلوم للبنات-جا□عة بغداد.

القيسي،باسم كاظم بريسم (2010).د□اسة بعض التأثيرات الو□اثية لمستخلص حبو□ لقاح نحل العسل في ذكو□ الفئرا□ البيضاء.□سالة□اجستير، كلية التربية ، جا□عة كربلاء.

حسن ،□فيد قائد احمد (1997).التاثيرات الد□وية الو□اثية الخلوية لاشعة كا□ا على الفأ□ الابيض Mus musculus.□سالة□اجستير كلية التربية (ابن الهيثم)، جا□عة بغداد.

صيهود ، يحيى د□يعهم (2000).تثبيط التاثيرات الد□ية والو□اثية الخلوية لعقا□ التا□وكسفين بواسطة □ستخلص الثوم .□سالة□اجستير كلية التربية (ابن الهيثم)، جا□عة بغداد.

قبيسي، حسا□.(2000).□عجم الأعشا□ والنباتات الطبية.□نشو□ات دا□ الكتب العلمية. الطبعة السادسة. بيروت، لبنا□. ص200.

قطب، فوزي طه(1981).النباتات الطبية وز□اعتها و□كوناتها.دا□ المريخ للنشر.الريا□ .

□جيد، سا□ي هاشم و□حمود،□هند جميل.(1988). النباتات والأعشا□ العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي. دا□ الثو□ة للصحافة والنشر. الطبعة الأولى. بغداد، العراق. ص51.

Foreign references

AL-Hakkak , Z.S.; Hamamy , H.A. and Hussain , A.F. (1986) . Chromosome aberration in workers at astorange battery plant in Iraq. Mutat. Res. 171: 53-60.

Akao. T. (2000). Competition in the metabolism of glycyrrhizin with glycyrrhetic acid mono-glucuronide by mixed *Eubacterium SP*. GLH- and *Ruminococcus SP*. P01-3. *Biol. Pharm. Bull*., **23**: 149-154.

Abraham, and Ogra.(1994). Mucosal microenvironments and the influenc of saponin on permeability and active mutebt transport in vitro. J.Nutation.116:2270-2277.

Aviram, M. and Fuhrman, B. (1998) . Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage–mediated oxidation of LDL and attenuate atherogenesis. Atherosclerosis. 137:545–550.

Abe, H., Ohyo, N., Yamamoto, K. F., Shibuya, T., Arichi, S. and Odashima, S.(1987). Effects of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid on growth and melanogenesis in cultured B16 melanoma cells. Eur. J. Canc. Clin. Oncol. 23:1549–1555.

Armanini, D., Bonanni, G. and Palermo, M. (1999).Reduction of serum testosterone in men by licorice. New. Engl. J. Med. 341:1158.

Ataya,K.,Valeriot,F.and Ramahi.,A.(1989).Effect of Cyclophosphamide on the immature rat ovary.Cancer Res.,49:1660-1664.

Adhiah, A. H. ; Hassan, M. K. and Kadhim, K. K. (2001) . The haematologic and cytogenetic effects of gamma radiation on white mouse (Mus musculus). J. of Pure. And App. Sci. 14,45-56.

Akhila, J. S. (2007). The effect of gabapentin and phenytoin on sperm morphology in wister rats . The society of biology of Reproduction, 7,3.

Aduloju, R.K. ; Atubanjo, O. ; Odeigah, P. (2008). An in vivo assay of the mutagenic potential of Praziquantel PZQ. Using sperm head abnormality. J. Hum. Ecol. 23,59 -63.

Ahmadi, A. and NG. SC. (1999). Development capacity of damaged spermatozoa .Hana Report, 14,2269 – 2285.

Abou-Tarboush, F. M. ; El-Ashmaoui, H. M. & Dafter Dar, M.Y.(1999). Cytogenetic effects of Mitomycin – C on fetal and adult mouse cells *In vivo* . J. Egyp. Med. Sci., **20** (2) : 463-474.

Awa,A.A.(1974).Cytogenetic and Oncogene Effect of Ionizing Radiation of the somatic bomb .In Jerman chromosome and cancer.1st ed. New York.PP485-490.

Alter,B.P and Potter,N.U.(1983). Long term outcome in Fanconia anemia description of 26 cases and review the literature In :Jerman chromosome and Neuplasia.1st ed. New York. USA.PP143-160.

Allen, J.W. ; Shuller, C.F. ; Mendes, R.W. and Latt, S.A. (1977). A simplified technique for *in vivo* analysis of sister chromatid exchange using 5- bromodeoxy uridine tablets. Cytogenetic, 18, 231-237.

Amin, A; Lotfy, M. and Adeghate, E.(2007) .The protective effect of *Tribulus terrestrs* in diabetes. Ann. N. Acad. Sc. 1084:391-401.

Anon ,(2005) . Glycyrrhiza glabra .Alternative Medicine Review 10 ,230 – 237.

Arrick B.A. and Nathan C.F.(1974):Cancer res.44,422.

Ariyaratne , H.B; Millson ;Mason , J.I . (2000). Effect of thyroid hormone on leydig cell regeneration in the adult rat following ethane dimethane sulphonate treatment . Biol – Reprod .63(4) . pp: 1115 – 1123 . (Abstract) .

Adedays, O. ; Anderson, W. ; Moo-young, M. ; Sneickus, V.; Patil, P. and antibacterial activity Kolawole, D. (2001). Phytochemical and of *Senna alata* flower. Pharmacist. Biol., 39: 1-5.

Alves , I. ; Oliveira , N. ; Laires , A. ; Rodrigues, A. and Rueff, J. (2000) . Induction of micronuclei and chromosomal aberration bythe mycotoxin patulin in mammalian cell : rol of ascorbic acid as amodulator of patulin clasogenicity . Mut . 15, 229-234.

Aurasorn**,** S. ; Kornkanok, I. and pattana, S. .(2007) .Immunomodulating Activity of Thai Rejuvenatin Plant .Naresuan Uni. J. 15, 149-157.

Aurasorn**,** S. ; Kornkanok, I. and pattana, S. .(2008) . Effects of *Terminalia bellerica* Roxb. Methanolic extract on mous immune response in viro. J. of Sci. And Tech. 2,400-407.

Aburada, M.; Takeda, S.; Ito, E.; Nakamura, M. and Hosoya, E. (1983). Protective effects of juzentaihoto, dried decoctum of 10 chinese herbs mixture, upon the adverse effects of mitomycin C in mice. *J. Pharmacobiodyn*, **6**: 1000- 1004.

Aziz,B.N.(2000).Effect of hydrogen peroxide-induced oxidative stress on epididymal sperms of mice .Iraqi J.Vet.Sci.,13:61-65.

Benjamen,R.C & Gill,D.M.(1980).ADP-ribosylation in mammalian cell ghosts ,dependence of poly –(ADP-ribose)synthesis on strand breakage in DNA .J.Bio.Chem.,255:492-501.

Belinky, P. A., Avirom, M., Mahmood, S. and Vaya, J. (1998).Structural aspects of the inhibitory effect of glabridin on LDL oxidation. Free Radic–Biol. Med. 24(9):1419-1429.

Bakr,R.A.Z.(2006). In vivo study of mitochondrial DNA and cytotoxic change in mice treated with mitomycin C as mutagenic agent.An Msc thesis. College of Science. Alnahrain University.

Baumer,A.;Duteley,F. and Balmer.(1998). High level of unequal meiotic crossover at the origin of the 22q11.2and 7.q11.23. deletion. Hum. Mol. Genet. 7:887-894.

Belfield,A. and Golderg,G.M.(1971).Revised assay for serum phenyl phosphatase acitivity using 4-amino-antipyrine-Enzyme.12:561-573.

Bakr,R.A.Z.(2006). In vivo study of mitochondrial DNA and cytotoxic change in mice treated with mitomycin C as mutagenic agent.An Msc thesis. College of Science. Alnahrain University.

Bin Hafeez, B.; Haque, R.; Parvez, S.; Pandey, S.; Sayeed, I. and Raisuddin S. (2003). Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum graesum L.*) extract in mice. Int Immunopharmacol, 3 (2), PP: 257/65.

Bennett,.J.C; and plum,F.(1996). Textbook of Medicine.20th ed.,1,W.B.Saunders company Philadelphia,pp:610.

Braunwald, K.; Fauci, H.; Kasper, L.; Hauser, S. and Longo R.(2001). Jameson. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th Edition. McGraw-Hill, New York.

Biswas , S.J. ; Bhattacharjee, N. and Khuda- Bukhsh, A. (2007).Efficacy of plant Extract *Chelidonium majusl* in combating induced hepatocarcinogenesis in mice . Food and chemical toxi
. 46 , 1474 – 1487.

Beresford, T. (1999). *Glycyrrhiza glabra* and treatment of respiratory disorders. Theaus.net@hotmail.Com.

Cinatl J. Morgenstern B. Baner G , etal .Glycyrrhizin an active component of licquorice roots and replication of SARS associated . coronavirus lancer 2003 ; 36 (9374) : 2045 – 2046 .

Chin, Y. W., Jung , H. A. and Liu, Y.(2007). Anti-oxidant constituents of the roots and stolons of licorice (*G.glabra*). J. Agric. Food Chem.55(12):4691-4697.

Chrstensen,C.C.;Salion,A.C. and Kenei,A.A.(1994).The antilashmania activity of active compound glycyrrhizic acid.Amre.J.Medicin. 83:216-222.

Cho, Y. C., Lee, S. H., Yoon, G., Kim, H. S., Na, J. Y., Choi, H. J., Cho, C. W., Cheon, S.H. and Kang, B.Y.(2010). Licochalcone E reduces chronic allergic contact dermatitis and inhibits IL-12P40 production through down-regulation of NF-Kappa B. Int. Immunopharmacol. 10(9):1119-1126.

Choi, E. M.(2005). The licorice root derived isoflavan glabridin increases the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells. J. Biochem. Pharmacol. 70(3): 363-368.

Chen CW , Huang HT , Blair jS , et al , Trabeculectomty With Simultaneous Topical Application of Mitomycin c in Refractory Glaucoma . J Ocul Pharmacol 1990; 6 : 175- 82.

Crook,T; Souhami, R. and Mlean, A. (1986). Cytotoxicity DNA crosslinking and single breaks in human leukemia cell. Cancer.Res.46 (10): 5029-5034.

Coles, E. H. (1980). Veterinary clinical pathology 3rd ed. W. B. Sauhders Company. London .

Cumming,J.;Spanswick,V.J &Tomas,Z.(1998)Enzymology of mitomycin metabolic activation in tumor tissue :implication for enzyme –directed bioreductive drug development Biochem.Pharmacol.,56:405-414.

Cannell,B.(1998).How to approach the isolation of natural products ,1st edn .Human Press.inc.

Cheel, J. ; Gabriel, O. ; Doris, V. k. ; Lenka, T. and Jarmila, N. (2010). Licorice infusion:chemical profile and effect on the activation and cell cycle progression of human lymphocyte. Pub Med. and science citation index. 6, 26-33.

Choen E.P. and Lemann J.(1991):Clin.chem.,37,785.

Compbell E.;Dickinson C. and Stater J.,(1984):Clinical physiology 5th ed.Black Well.Scientific publication. P.651.

Cai, Y. Z; Luo, Q; Sun, M. and Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci. 74: 2184.

Cohen, S. M. ; Emily, M. G. and Margaret, S. J. (1992) . Acrolein Initiates rat urinary bladder carcinogenesis. Cancer Res. 52, 3577-3581.

Cynthia,M.S.;Bassem,R.H.;Dean,S.R.;Zoe,W;W;Allen,C.;;Ruib ai,L.; Hannah,M.Y,;Zhao,Q.W.;Thomas,R. and Mark,E.S.(1999). Chromosomal aberration in PARP Mice: Genome stabilization in immortalized cell by reintroduced of (ADP-ribose)polymerase cDNA.Proc.Nat.SCi.96:13191-13196.

Deiana, M; Assunta- Dessi, M; Ke, B; Liang, Y.F; Higa, T; Gilmour,P.S; Jen, L.S; Rahman, I.and Aruoma, O.I.(2002).The antioxidant cocktail effective microorganism (EM) inhibits oxidant induced interleukin-8 release and the peroxidation of Res. Commun. 296 , 1148 - 1151. phospholipids in vitro. Biochem. Biophys.

Doak, H. S. ; Gareth, J. S. ; Jenkins, G. ; Johnson, E. ; Emma, Q. ; Parry, M. E. and James, M. P. (2007) . Mechanistic Infiuences for mutation induction curves after exposure to DNA – Reactive carcinogen. Can. Res. 67, 8.

Evans, W.C. (Editor). (1999). *Trease and Evan's Pharmacognosy,* 14th Ed. W.B.Saunders Company Ltd. U.K. pp: 612.

Edward, G. R., Bene, D. R., Lindsay, R. S. and Seckl, J. R.(1996).11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: key enzymes in determining tissue–specific glucocorticoid effects. Steroids. 61:263–269.

El- saeedy, A. S. ; Taha, A. ; Mohamed, A. ; Baith, E. ; Azza , A. and Ali, M. (2005). Ultrastructure sperm defect in male during carcinogenicity of urethane and indoxan . Arab, j. Biotech. 9, 27-40.

Ericsson, U. B. and Lindgrade, F. "Effect of Cigarette Smoking on thyroid function and the prevalence of goiter, Hyrotoxicosis and autoimmune thyroiditis". Journal of Internal Medicine. (1991); 229: 67-71.

Evans, W.C. (Editor). (1999). *Trease and Evan's Pharmacognosy*, 14th Ed. W.B.Saunders Company Ltd. U.K. pp: 612

Erbo,D.; Riso;P.; Colombo, A. and Testolin, .(1999).Supplementation of Jurkat T cells eith green tea extract decrease ozidative damge due to iron treatment J.Nutr.129:2130-2134.

Fujioka T . Kondou T .Fukuhara A . etal .Efficacy of glycyrrhizin suppository for the treatment of chronic hepatitis C: apilot study . Hepatol Res 2003 ; 26 (1) : 10 – 14

Foster , S. (2000). Licorice. Stephen Foster Group.

Fukai, T., Satoh, K., Nomura, T. and Sakagami, H.(2003). Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from *glycyrrhiza glabra*. Fitoterapia. 74(7–8):624–629.

Fuhrman, B. , Volkova, N. , Kaplan, M. , Presser, D., Attias, J., Hayek, T. and Aviram, M.(2002). Antiatherosclerotic effects of Licorice extract supplementation on hyper cholesterolemic patients: increased resistance of LDL to atherogenic modifications, reduced plasma lipid levels and decreased systolic blood pressure. Nutrition. 18(3):268-273.

Friedberg,E.C.;Walker,G.C. and Side.W.(1995).DNA repair and Mutagenesis in Human chromosome.4th ed New York. USA.PP187-199.

Freancesco,M.;Jack,B.;Xiu,L.;John,H and Andrew,J.W.(2000). Etoposid induce hertable chromosomal aberration and aneuploidy durig male mieiosis in the mouse.Prc.Nat.Aca.sci.98:3952-3957.

Fitzgerland,P.H. and Morris,C.M.(1984).Telomeric associated of chromosome in B-cell lymphoid Leukemia.Hum.Genet.67:385-390.

Gabbay, E., Zigmond, E., Pappo, O., Hemed, N., Rowe, M., Zabrecky, G., Cohen, R. and Ilan, Y.(2007). Antioxidant therapy for chronic hepatitis C after failure of interferon: results of phase II randomized, double–blind placebo controlled clinical trial World J. Gastroenterol. 13(40):5317–5323.

Goso Y , OgataY , Ishihara K, Hotta K .Effects of traditional herbal medicine on gastric mucin against ethanol –induced gastric injury in rats . Comp.Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol 1996 ; 113 : 17-21.

Gupta, A.; Gupta, R. and Lal, B.(2001). Effect of Trigonella foenum- graecum (Fenugreek seeds) on glycemic control and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus : a double blind controlled study. J. Assoc. of Physicians of India. 49, PP: 1057-1061.

Guyton , A.C. and Hall , J.E. (1996) . Textbook of medical physiology , 9th edn . ,W.B.Saunders Company , Philadelphia

Gupta ,R.S.; Sharma, R.; Sharma, A.; Bhatnager, A.K.; Dobhal, M.P.; Joshi,Y.C.(2002) . Effect of *Alstonia scholaris* bark extract on testicular function of Wistar rats. Asian J Androl; 4: 175-8.

Ganong, W. F. "The thyroid gland In: Review of Medical Physiology". 20thed., McGraw-Hill Companies, New York. (2001); pp: 307-317.

Guyton , A.C. and Hall,J. E. (2006). Textbook of Medical Physiology .11 th edition W. B. Saunders; company , Philadelphia.

Griveau,J.F.;Dumont,E.;Renard,P.;Callegari,J.P.&Lelannou,D.(1995).Reactive oxygen species , lipid per oxidation and enzymatic defense system in human spermatozoa .J.Reprod .Fert.,103:17-26.

Ghareeb, A. and George ,N.M.(1997).Cytotoxicity of insecticide temik 15 G (Decarb) in mitotic and meiotic cells of *Vicia faba* plant. Cytologia,62:259-263.

Hoffmann, D. (1996). The herbalist. Cited by: T. Beresford, (1999). *Glycyrrhiza glabra and Treatment of Respiratory Disorders*. Internet. Theaus net@hotmail.com

Haraguchi, H., Yoshida, N., Ishikawa, H., Tamura, Y., Mizutani, K. and Kinoshita, T.(2000). Protection of mitochondrial functions against oxidative stresses by isoflavans from *Glycyrrhiza glabra*. J. Pharm. Pharmacol. 82(2):219–223.

Hand,M.P.;Azizova,T.V.;Burka,L.E.;Khokryako,V.E.;Geard,C.R. and Brenner,D. J. (2005). Complex chromosomal aberration persist in individual many year after exposer to denselyIonizingradiation:An mFISH.Chromosome &Cancer.44:1-9.

Humason, G. (1997). Humason animal tissue techniques. 5th ed.London.

Harborne, J. B. (1984). Physiochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis, 2nd Ed. Chapman and Hall. London,New York. 288p.

Huennekens , F.M (1994) . The methotrexate story : a Paradigm for development of cancer chemotherapeutic agents. Adv. Enzyme. Regul. 34 : 397-419.

Hsieh, F. Y. ; Guo J. ; Kanicki J. ; Lee MY. ; Darzynkiewicz, Z. and Wu, J. M. (2004). Licochalcone / A anovel flavonoid isolated From licorice root (*Glycyrrihza glabra*) causes G2 and late/ G1Arrest in androgen/independent PC/3 prostat cancer cell.Biochem. Biophys. Res. 10, 263-270 .

Hamza, A. A. (2007). *Curcuma longa* , *Glycyrrihza glabra* and *Moringa oleifera* Ameliorate Diclofenac-induced Hepatoxityin rat.Ame. J. of pharm. and toxo. 2 , 80-88.

Herber, R. F.M. Verplanke, A.J.W. and Verschoor, M.A. (1989). Early kidney effect by exposure to xenobiotics. In"International Coference Heavy metals in the environment". J.P.Verent(ed.). Geneva, PP: 314-317.

Hipler,U.C.;Gornig ,M.;Hipler,B.;Romer,W.&Schreiber ,G.(2000). Stimulation and scavestrogen –induced inhibition of reactive oxygen species generated by rat sertoli cells .J.Arch.Androl.,44:147-154.

Holtz,K.H. ;Rockwell, S.,Tomasz, M. & Sartorelli , A.C. (2003).Nuclear over expression of NADH:cytochrome b5 reductase activity increases the cytotoxicity of mitomycin-C and the total number of MC-DNA adducts in Chinese hamster ovary cells.J.Bio.Chem.278(7):5029-5034.

Hattori.T.;Ikematsu,S.;Koito,A.;Matosushita,S;Meada,Y.;HAda, M.; FuimakI. M. and Takasukui,K.(1989).Preliminary evidence for Inhibitory Effecter of glycyrrhizic acid on HIV Replication in patient with AIDS. Antiviral Res.11:255-262.

Host, E. ; Lindenberg , S. S. and Jensen , S. (2000). DNA strand breaks in human spermatozoa correlation with fertilization in vitro in oligozospermic men and in men with unexplained in fertility Acta.Obstet. Gynecol. scand 79,189-193.

Hundal, K. ; Swanton, A. ; Itani, A. ; Williams , L. ; proven, M. ;

Graun, E. I. ; Veigh, M. and Chid, T. (2009) .Serum karyotype and cystic fibrosis gene abnormalities in men with sever azoospermia . the oxford experience and UK. Nati. survey . 67 ,453-460.

Hus,T.C;Pathak.S and Basrn,B.M.(1978).Induced Robertsonian fusion and tandem translocation in mammalian cell culture. Cytogenet.21:86-98.

Isbrucker, R. A. and Burdock, G. A.(2006).Risk and safety assessment on the consumption of licorice root *Glycyrrhiza* sp., its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. Regul. Toxicol. Pharmacol. 46:167–192.

Indian herbal pharmacopeias. (1998) . A joint publication of regional research labrotary , conical of scientific and industrial, Res. Jammutawi , 1, 1-10.

Jo, E. H., Kim, S. H., Ra, J. C., Kim, S. R., Cho, S. D., Jung, J. W., Yang, S. R., Park, J. S., Hwang , J. W., Aruoma, O. I., Kim, T. Y., Lee, Y. S. and Kang, K. S.(2005). Chemopreventive properties of the ethanol extract of Chinese

Jagadeesan,G. and Kavitha,A.V.(2006). Recovery of Phosphatase and mercury in toxicated *Mus musculus* L.liver tissue by *Tribulus terrestris* L. (Zygohyllaceae) extract.TropicalBiomed.23(1):45-51.

Jawad,A.A. (1997) . Ethological studies in assessing the anti-aggressive effect of some Iraqi medicinal plants in laboratory mice, A Thesis in Physiology College of Education, Basrah University .

Johnston , A.; Gudjonsson , J.; Sigmundsdottir , H.; Ludviksson , B. and Valdimarsson, H. (2005) . The anti-inflammatory action of MTX is not mediated by lymphocyte apoptosis , but the suppression of activation and adhesion molecules. Clin. Immunol. 114 : 154-163.

Jeong, H. ; You, H. J. ; Park, S. J. and Chun, A. K. (2002) Hepatoprotective effects of 18β -Glycyrrhetinic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury : inhibition of cytochrome P450 2 E1 Expression. Pharmaco. Res. 46, 221-227.

Kamej . J , Nakamura R , Ichiki H etal Tutitussive principles of glycyrrizae radix amain component of the kampo preparations bakumondo – to (Mai - men –dongtang). Eurj pharmacol 2003 ; 469 (1-3) : 159 -163 .

Kharazmi,C.A.;Concy,B.and Randoi,B.B.(1997).The Antimalarian activity of glycyrrhizic acid Amer.J.Medicin.86:236-242.

Kim, Y. W., Zhao, R. J., Park, S. J. , Lee, J. R. , Cho, I. J., Yang, C. H., Kim, S. G. and Kim, S. C.(2008).Anti–inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF-Kappa B dependent iNOS and proinflammatory cytokines production. Br. J. Pharmacol. 154 (1):165–173

Kim, K. R., Jeong, C. K., Park, K. K., Choi, J. H., Park, J. H., Lim, S. S. and Chung, W. Y.(2010). Anti–inflammatory effects of licorice and roasted licorice extracts on TPA–induced acute inflammation and collagen–induced arthritis in mice. J. Biomed. Biotechonl. doi: 10.1155/2010/709378.

Khan, P.K. and Awasthy, K. S. (2003). Cytogenetic toxicity of

Neem. Food and Chem. Toxi. 41,1325-1328.

Kadowaki , S. , ; Kazufumi , N. , ; Yoshinori, T. ; Koji , Y. (2001) . The suppressing effect of the extract from cassia nomame on clastogenicity and cytotoxicity of mitomycin – c in chinus hamster ovary cell . J. of health Sci. 47, 86-88.

Kalavathi, V. ; Chandra, N. ; Renjini, G. N. ; Jayashree, S. ; Sugunash, P. A ; Meena, J. ; Jegatheesan, T. ; Santhiya, S. T. ; Ramesh, A. ; Gopinath, P. and Marimuthu, M. K. (2010). Chromosomal abnormalities in 979 cases of Amenorrhea. Review. 34, 786-792

Kersey. J.P,Vivian.A.J.(2008).mitomycin and mitotic membrane anew adhesions and fibrosis in strabismus surgery. Strabismus16(3):116-118.

Khan, F. ; Sherwani, A. and Mohammad, A. . (2009) .Chromosome aberration and micronucleus studies of 2 topoisomerase II targeting anthracyclines . J. Enviro. Bio. , 30,409 – 412.

Kang,Y.H.; Lee,K.A;Ryu,C.J.&Lee,H.G.(2006).mitomycin-c induces apoptosis via Fas/FasL dependent pathway and suppression of IL-18 in cervical carcinoma cells .Cancer Lett., 237:33-44.

Kevin,L.Y.W;Hussin,A.H; Zhari,I.and Chin,J.H.(2012). Sub–acute oral toxicity study of methanol leaves extract of *Catharanthus roseus* in rats. J.Acute Disease ,38-41

Khan, F. ; Sherwani, A. and Mohammad, A. . (2009) .Chromosome aberration and micronucleus studies of 2topoisomerase II targeting anthracyclines . J. Enviro. Bio. , 30,409 – 412.

Kadowaki , S. , ; Kazufumi , N. , ; Yoshinori, T. ; Koji , Y. (2001). The suppressing effect of the extract from cassia nomame on clastogenicity and cytotoxicity of mitomycin – c in chinus hamster ovary cell . J. of health Sci. 47, 86-88.

Ken, Y. ; Takido, M. M. ; Takeuchi, M. and Nakagawa, S. (1988). Inhibitory effect of the glycyrrhizic acid cafein on two stage carcinogenesis in mice. Biol. Abs. .86,11207.

Kensler , T. (1997). Environ Health Prospect. 105 : 965.

Komiyama, K., Kawakubo, Y., Fukushima, T., Sugimoto, K., Takeshima, H., Ko, Y., Sato, T., Okamoto, M. , Umezawa, I. and Nishiyama, Y.(1977).Acute and subacute toxicity test on the extract from *Glycyrrhiza*. Oyo Yakuri.14: 535-348. Cited by: Isbruker, R. A. and Burdock, G. A.(2006).Risk and safety assessment on the consumption of licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. Regul. Toxicol. Pharmacol.46:167-192.

Kent, M. U. ; Michael, A. ; Mira, R. and Paul, F. H. (2002). The Licorice root derived isoflavan glabridin inhibits the activities of human cytochrome P450 , 3A4 , 2B6 and 2C2 . DMD . 30,709-715.

Kurpisz,M.; Miesel,R.; Sanocka, D.& Jedrzejc, Z.(1996).Seminal plasma can be predictive factor for male infertility .Human Reprod.,11:223-1226.

Kinoshita, T. ; Yukiyoshi, T. and Kenji, M. (2003).Isolation and synthesis of two new 3-Arylcoumarir derivative from the root of*Glycyrrihza glabra* and structure revision of an antioxidantisoflavoniod glabrene. Natu. product Res. 9,289-296.

Kettere, B. (1988) . protective rola of glutathione and glutathione transferases in mtagenesis and carcinogenesis. Mutation Res. 202:343-361.

Li, L., Liang, S. P., Du, F. F and Li, C.(2007). Simultaneous quantification of multiple licorice flavonoids in rats plasma. J. Am. Soc. Mass. Spectrom. 18(4):778–782.

Littlefeied, L.;Colyer, S.and Dufration, R.(1980).Comparison of SCE in human lymphocyte after exposure to MMC in vitro,in vivo.Mut.Res.,67:191-195.

Lagersted,K.;Karsten,S. and Galbrg,B.M.(1997)**.**Double strand break initiate the inversion mutation causing Hunter syndrome.Hum.Mol.Genet.6:627-633

Lal,B.;Murthy,R.C.;Anand,M.;Kumar,R.;Chanfra,S.V.;Tripthi,O. and Srimal,R.C.(1991).Cardiotoxicity and Hypertension rat after oral lead exposure .Drug.Chem.Toxicol.14:305-318.

Lynda,S.;Wright,S.E.;Kornguth,F.;Terry,D.O.and Frank,L.S.(1998).Effects of lead on Glutathion S-Transferase Experession Toxicological sciences.46:254-259.

Longmore, P.; Wilkinson, D.; Rajagopalan, L.(2004). Oxford Handbook of Clinical Medicine. 6th Edition. Oxford University,press,Londom.

Limidi ,j.k.and G.M.Hude. **2003**. Evaloation of abnormal live function testes .*Postgrad .Med J.***79**:307-312.

Lee H.A.,Sharpstone P.;Ames A.C.,(1967): Postgarde,med.J.,43,381

Lee, J. R., Park, S. J., Lee, H-S. , Jee, S.Y., Seo, J., Kwon, Y. K., Kwon, T. K. and Kim, S. C.(2007). Hepatoprotective activity of licorice water extract against cadmium–induced toxicity in rats. Evidence–based Compl. and Alt. Med.6(2):195-201.

Mowrey, D. (1986). The scientific Validation of Herbal Medicine. Cited by: T. Beresford (1999). *Glycyrrhiza glabra and Treatment of Respiratory Disorders*. Internet: Theaus net@hotmail.Com.

Mu- Zheng, M.; Shkai, Y. ; Ose, Y. ; sato, T. ; Nagase, H. ; Kito, H. ; sato, M. ; Mizuno; Ono, K. and Nakane, H. (1990). Antimutagentic activity by the medicinal plant in traditional Chinese medicine. *Shoyakugaku. Zasshi*, **44**: 225- 229.

Malinio,M.R.(1985).Cholesterol and bile salt balance in Macaca Fascicularis. J.Clin.Invest.67:126-129.

Mori,K.;Sakai,H.;Suzuki,S.Augai,K.;Akustsu,Y.;Ishikawa,M.; Seino,Y.Ishada,N. and Uchaida,T.(1989)**.**Effect ofglycyrrhizin on Hemophilia Patient with HIV nfection.J.Exp.Med.128:25-36.

Miura,K.,Mortmoto,K.and Koizumi,A.(1983).Proliferation Kinetics and MMC-induced chromosome damage in fanconis anemia lymphocytes.Hum.Genet.63:19-23.

Mohammed, B . M. ; Karim, J. K. and Yassen , Y. (2009). Antimutagenic effect of thymus syriacus extract against the genotoxity of gemcitabine in male albino mice . J. Duhok Uni. 12,216 -226.

Muschio , L. R. (2009). Assessment of the mutagenic, genotoxic potential of the water of the Preto river in the areainfluenced by Sao Jose de Riopreto, SP. Msc. thesis.

Martin,R.H.(2003).Chromosome Abnormalities in Human sperm. In: Advance in Male Mediated Development toxicity. New York. Plenum Press 518:181- 188.

Metacalf, J. A.; Gallin, J. I.; Nanseef, P. W. M. and Root, R. K. (1986). Laboratory Manual of Neutrophil Function. Raven Press, York. 84- 90.

Meyer,E.&Walther ,A.(1988).methods for the estimation of protein, lipid,carbohydrate and chitin in fresh water invertebrates.J.Arch.Hydro boil.,13:61-177.

Meena, A. k. ; arjun, S. ; Kiran, S. ; Suman, K. and Rao, M. M. (2010). Physicochemical and preliminary Phytochemical studies onthe rhizomes of *Glycyrrihza glabra* Lin. Inter. J. of pharm. And pharmaco. Sci. 2,1497-1491.

Martein, D.W.;Mayes, P.A.; Rodwell, V.W.;and Granner,D.K.(1985). Harper's review of Biochemistry.20th ed Lange Medical

Mihi,Parmar.y and Gindhi, T.R. **2008** .Hepatoprotective herbal drug silymarine from expermintal pharma Gology to clinical medicin–review .*Pharmaconosy reviews*, **2**(3):1-7.

Madhavi, D**.** ; Rudrama, K. and Rao, K. (2007). Modulating effect of Phyllanthus fruit extract against lead genotoxitey in germ cell of mice . J. Enviro. Bio. 28,115-117.

Morre, D.J.; Morre, D.M.; sun, Hi.; cooper R., change, J. and Janle, E. M. (2003). Tea catechin synergies specific cell surface oxidese (ECTO-Nox). Pharmocal toxical. 92(5):234-41.

Newall,C.A.;Anderson,I.A. and Phillipsson,J.D.(1996).Herbal Medicine A guide for Health – aCare professional.The Pharmaceuttical. Press , London.England

Nishino, H.; Kitagawa, K. and lwashima, A. (1984) Antitumor- promoting activity of glycyrrhetic acid in mouse skin tumor formation induced by 7, 12- dim-. Ethy. benza [a] anthracene plus teleocidin carcinogen. *Esis*, **11**: 1529- 1230.

Noor, M. M. ; Abu Hassan, S. ; Moltd, N., and lukman, C. H. (2004). The effect of *eurcoma longifolia* jack (tongkat ali) on sexal behaviour and sperm quality in rat. Malaysian J. of pharma. Sci. 1,53-60.

Nichol,W.W.(1983).Viral interaction with mammalian genome relevant to Neoplasia.In German chromosome mutation an neoplasia.1st ed.New York. USA.PP184.

Natrajan, A.T. & Raposa, T.(1975). Heterochromatin and chromosome aberrations: comparative study of three mouse cell lines with karyotype and heterochromatin distribution. Heredita, 80:83-90.

Natarajan , A.T. (2005) . Chemical mutagenesis from plant to human . Current sci. 89, 20-25.

Nakamura, T.; Nakazawa, T.; Onizuka, S.; Satoh, S.;Chiba, A.; Sekihashi, K.; Miura,A.;Yasugahira, N. & Sasaki, Y.(1997).Antimutagenecity of tochu tea (anaqueous extractof *Eucommia ulmoides* leaves). Mut. Res., 388(1):7-20.

Orlando,J.M. and Eva,T.(2003).Human Chromosome.4th ed. New York. USA.87-130.

Ploeger B , Mensinga T, Sips A , et al The pharmacokinetics of glycyrrhizic acid evaluated by phtsiologically based pharmacokinetic modeling . Drug Metab Rev 2001 ; 33 : 125 – 147 .

Park, S. Y., Lim, S. S., Kim, J. K., Kang, I. J., Kim, J. S., Lee, C., Kim, J. and Park, J. H.(2010).Hexan-ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* containing licoricidin inhibits the metastatic capacity of DU145 human prostate cancer cells. Br. J. Nutr.21:1–11.

Ploeger, B. A.(2000). Development and use of a physiologically based pharmacokinetic–pharmacodynamic model for glycyrrhizic acid in consumer products. Ph D thesis, University of Utrecht.

Pant, P., Nadimpalli, L., Singh, M. and Cheng, J.C.(2010). A case of severe hypokalemic paralysis and hypertension. Am. J. kidney Dis.55(6):35–37.

Philipe, D. M. ; Myriam, D. ; Marie, C. V. ; George, B. ; Patrich, C. ;Roger, M. and Louis, B. (2001). Ineread aneuploidy in spermatozoa from testicular tumor pation after chemotherapy with eisplatin ,etoposide and beleomycin . J. Pharm. 78, 456-461.

Piton, A.; Poynard, T.; and Imbert-Bismut,F. (1998). Factors associated with serumalanine transaminase activity in healthy subjects: conseguences for the definition of normal Values for selection of blood donors and for Patints with chronic hepatitis. C.Hepatology, 27:1213-9

Paolini, M.,Barillari, J., Broccoli,M.,pozzetti,l., perocco,P. and Forti, G.(1999).effect of licrice and glycyrrchizin on rat liver carcinogen metabolizing enzymes. Cancer Lett.145:35-42.

Pooder, S.; Chattopadhyay, A. & Bhattacharya, S.(2008).*In vivo* suppression fluoride of chromosomes aberration induced by mitomycin–C in mouse bone marrow cells . J. Fluoride . Res ., **41** (1): 40-43 .

Philipe, D. M. ; Myriam, D. ; Marie, C. V. ; George, B. ; Patrich, C. ;Roger, M. and Louis, B. (2001). Ineread aneuploidy in spermatozoa from testicular tumor pation after chemotherapy with eisplatin ,etoposide and beleomycin . J. Pharm. 78, 456-461.

Pistacor,M. ;Bjork,L. and Nordberg,M.(1981). B2-microglobin levels in serum and urine ofcadmium expose rabbits. Acta. Pharmacol.Toxicol.J. 54: PP: 73-81.

Rackova, L., Jancinova, V., Petrikova, M., Drabikova, K., Nosal, R., Stefek, M., Kostalova, D., Pronayova, N. and Kovacova, M.(2007).Mechanism of anti-inflammatory action of liquorice extract and glycyrrhizin. Nat. prod. Res. 21(14):1234–1241.

Rao**,** K. S. ; Young, X. ; Ellen, S. and Joseph, W. (2000). Mutagenecity testing applied for regulation of developing product.USA. Green field J. 46, 140.

Rabbani , S**.** ; Kshama, D. , and Khanam, K. (2009). Inhibition effect of Glimepiride on nicotinamide – streptozotocin induced nuclear damage and sperm abnormality in diabetic wister rats . Indian J. of 47, 804- 810.

Raju, J. and Bird, R.P. (2006). Alleviation of hepatic steatosis accompanied by modulation of plasma and liver TNF/alpha levels by *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) seeds in Zucker obese (fa/fa) rats. Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada. Int J Obes (Lond). 30 (8), PP: 1298/307.

Rajesh, M.G. and Latha, M. S.(2004) . Protective activity of *Glycyrrhiza glabra* Linn. On carbon tetrachloride- induced peroxidative damage . Indian J. Pharmacol, 36 , 284-287

Ramel,C.; Alekperov, V.;Amoes,B.A., Kade,T. and Watteenberg ,L.W.(1986).Inhibitors of mutagenesis and relerance to carcinogenesis .Mutat.Res.; 168:47-65.

StQrmer, F.C.; Raistad, R. and Al-Exander, J. (1993). Glycyrrhizic acid in liquorice-evaluation of health hazard. *Fd. chem. Toxic*., **31**: 301-312.

Shubber , E. and Salih , H. (1987). Cytogenetic studies on blood lymphocytes from Patients with *Schistoma mansoni* . Japan J. Med. Sci. Biol. 40:137-145.

Shibata, S.(2000). A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. Yakugaku. Zasshi.120(10): 849–862.

Sen,N.(1999).The activity of the glycyrrhizic acid compound.J.virology.47:2210- 2221.

Santa,A.W.(1995).The effect of some actve compound on hepatitis type B.In Vivo. 7:223-229.

Shiota, G., Harada, K.,Ishida, M., Tomie, Y., Okubo, M., Katayama, S., Ito, H. and Kawasaki, H.(1999).Inhibition of hepatocellular carcinomas by glycyrrhizin in diethylnitrosamine–treated mice. Carcinogenesis.20:59-63.

Somjen, D., Knoll, E., Vaya, J., Stern, N. and Tamir, S.(2004). Estrogen–like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues in vitro and in vivo. J. Steroid Biochem. Mol. Biol.91(3):147–155.

Shubber, E. K. and Salih, H.A. (1988). Cytogenetic detection for interaction between drug and radiation .J. Nucleus, 31,24-30.

Sun,F.;Ko,E. and Martin,H.R.(2006). Relationship between sperm chromosome abnormalities and sperm morphology. Reproductive Biology and endocrinology.4:1- 9.

Sameer, H. Q. (2008). In vitro evaluation of the anti mutagenic effect of *Qriganum majorana* extract on the meristematic root cells of *Vicia faba.* Plant Res. 87, 347-352.

Schroder, H. ; Heimers, R. A.; Frentzel, B. ; Schott, A. and Hoffmann , W. (2003). Chromosome aberration analysis in Periphera lymphocyte of Gulf war and Balkan war veterans. Cancer Res. 768, 43-48.

Shiloh,Y.(1995).Ataxia-Lelagictasia closer to unraveling the mystery .Eur. Hum. Genet.

Smolensk, S**.** ; Silnis, H. and Fransworth, N. (1972) . Alkaloid screening. Liydia, 35,31-34.

Shihata, I. (1951) .A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M. D. Vet. Thesis, Cairo, Uni. Egypt.

Sambrook, J. ; Frigah, E, and Maniatis, T. (2001) . Molecular cloning : a lab. Manual. Cold Spring Harbour Lab. New York.

Spector,J.E.Werkhaven,J.A.& Spector,N.C.(2001).preservation of function and histologic appearance in the injured glottis with topical mitomycin-c.Laryngoscope 1999,109:1125-1129.hearing in a canine model.Ann.Otol.Rhinol.Laryngol.,110:15-30.

Saadalla,R.A.(1980).Biochemistry practical ,Manual .college of medicine,Basrah.

Suradkar,S.G.;Vihol,P.D.;Patel,H.J.;Ghodasara,D.J.;Joshi,B.P.and Prajapati,K.S.(2010).Patho-morphogical changes in tissues of Wistar rats by exposure of lead acetate.Veterinary World .3(2):82-84.

Sastry, K. V. & Agrawal, M. K. (1997). Cadmium chloride induced enzymological changes in kidney and overy of ateleost fish channa pimctatus, Bull. Environ.Contain. Toxicol., 48:11-20

SeongGill , K. & JuChan , K. (2006) .Effect of dietary copper exposure on accumulation , growth and hematological parameters of the juvenile rockfish , *Sebastes schlegeli* . Marine Environmental Research . 26 : 599 – 608 .

Silva, G. T.; Lee, I. K. and Kinghorn, A. D. (1998). Special problems with the extraction of plant in : Cannel, R. J. P. (Ed) Natural Products Isolation, Methods in Biotechnology., Humana Press. Totumn, New Jersey., 4: 343-633 .

Shah,V.C.(1975).Effects of some antibiotics on cell cycles of cultured and meristemic cells .In :Regulation of growth and differentiated function in eukaryotic cells .(ed.Talwer ,G.P.),Raven Press.New York,PP.53-69.

Sato, T. ; Onse, Y. ; Nagase, H. and Kito, H. (1990). Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against (benzo (a) yrene) in the *Samonella* assay .J. Mut. Res . 241,283-290 .

Stich, H. F. and San, R. H. C. (1981). Topics in environmental physiology and medicine. Short – term test for chemical careinogens. Springer, herverlag, New York. 89, 12.

Shibata,R.(1994).Antitumur promoting and anti-inflammatory of licorice principles and their modified compound.Acs.Amer.Chemical Society.574:308-321.

Shannon, M. ; Wilson, B. and Stang, C. (2006). Health professions drug guide. Pearson Prentice. Hal, 753.

Saggoo, M. I. S. Kumari , S. and Bindu(1991).Cytological effects of India medicinal plants I. Mitotic effects of leaf homogenate of *tylophora indical* on *Allium cepa* Cytologia, 56:33-637.

Ssmejime,K.;Kanazawa,K.;Ashida,H. and Danno,G.(1998).Bay laural contains antimutagenic kaempferal coumarate against the dietary carcinogen 3-amirio-1- methyl-5H-pyrido (4,3-10) indol (trp-p-2) .J.Agric food chem. , 46:4864-68.

Schimmer, O. and lindenbaum, M. (1995). Tannins with antimutagenic properties in the herb of Alchemilla species and potentilla anserine. Planta Med.; 61: 141-145.

Trease, G. E. and Evans, W. C. (Editors)(1983). *Pharmacognosy*, Xll Edition. Bailliere Tindall, London. pp. 812.

Tyler, V.E. ; Brady, L. R. and Rabbers, J.E. (Editor)(1988). *Pharmacognosy*, lX Edition. Lea and Fabiger, Philadelphia pp: 519.

Tawata, M.; Yoda, Y.; Aida, K.; Shindo, H.; Sasaki, H.; Chin, M. and Onaya, T. (1990). Anti-platelet aqction of GU-7, A3- argleoumarin derivative, purified from *Glycyrrhiza radix. Planta Med.* **56**: 259-263.

Tamir , S. ; Eizenberg , M. ; Somjen , D. ; Stem , N. ; Shelach , R. ; Kaya , A. and Vaya , J. (2000). Estrogenic and anti proliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cell. Cancer. Res. 60 : 5704-5709.

Townsend, C.C. and Guest, E. (Editor)(1974*). Flora of Iraq*. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, pp: 445-448.

Tamarin,R.H.(1996).Principle of genetics..5th ed. WBC. Brown Publishers. London . PP.21-30.

Tolliver, D. and Robbins, L. (1991). Techniques in karyology: the bone marrow extraction method. Association for Bio. Lab. Education,12,69-73.

Tomsaz,M.&Palom,(1997).the mitomycin bio reductive antitumor agents:cross linking and alkylation of DNA as the molecular basis of their activity.Pharmacol.Ther.,76:73-87.

Tanaka,T.;Orii,Y.;Nonaka,G.&Nishoka,I.(1993).Tannins and related compounds .CXXII.chromone,acetophenone and phenylpropanoid glycosides and their galloyl and/or hexahydroxydiphenoyl ester from leaves Syzygium aromaticum Merr.et Perry.J.Chem.Pharm.Bull.,41(7):1232-1237.

Uotila, M.; Ruoslahti,E .and Engrall,E.(1981).J.immunol.Methods;42: 11-15.

Van RoossumTG, Vulto AG, Hop WC , Schalm SW.Glycyrrhizin – induced reduction of ALT inEuropean patients with chronic hepatitis C. Am J

Vaya, J., Belinky, P. A. and Aviram, M.(1997).Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. Free Radic. Biol. Med. 23(2):302–313.

Van den Bosch, A. E., Van der Klooster, J.M., Zuidgeest, D. W., Ouwendijk, R. J. and Dees, A.(2005). Severe hypokalmic paralysis and rhabdomyolysis due to ingestion of liquorice. Neth. J. Med. 63(4):146–148.

Vancleve, J.F.; Salim, B. & Zavos, P.M.(1987) .The effexy of Mitomycin-C on daily sperm production potential and other spermatogenic parameters in mice. Drug Chem. Toxicol., **10**:275-290.(Abstract on line).

Van RoossumTG, Vulto AG, Hop WC ,Schalm SW.Glycyrrhizin –induced reduction of ALT inEuropean patients with chronic hepatitis C. Am J.Gastroenterol 2001 ; 96 : 2432 – 2437.

Vestergaard, P. "Smoking and thyroid disorders". European Journal of Endocrinology. (2002); 146: 153-161.

Wang, Z.Y., Athar, M. and Bichers, D. R.(2000). Licorice in foods and herbal drugs: chemistry, pharmacology, toxicology and uses. In: Mazza, G. and Oomah, B. D.(editors). Herbs, botanicals and teas. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PP:321–353.

Wang, Z. Y. and Nixon, D. W.(2001).Licorice and cancer. Nutr. cancer.39(1):1-11.

Watson, W. ; Cai, H. and Jones, D. P. (2000). Diet and apoptosis Annual review org. 20,485-50.

Warren, A. J. ;Maccubbin, A. E. & Hamilton, J. W.(1998).Detection of Mitomycin-C DNA adducts *In vitro* by P33-postlabelling : Time course for formation and removal of adduct and biochemical modulation .Cancer Res., **58**: 453-461.

Wistom,G.B.(1976).Enzyme .immuno assay clin.22:1243.

Wu, P., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, X., Guo, Z., and Liang, X.(1999). Effects of glycyrrhizin on production of vascular aldosterone and corticosterone. Horm. Res. 51(4):189–192.

Yang, Z.J., Ye, W. S. ; cui, G. H.; Guo, Y. And Xue, S. P. (2004). Combined administration of low-dose gossypol acetic acid with desogestrel/ mini-dose ethinylestradiol / testosterone. J. Agre. 36, 567-570.

Yaseen,A.A.;Salih,A.M.;Harbawi,D.&Jaber,T.A.(1998).Anew modified medium for human peripheral blood leukocytes cultures.Al-Kufa J.,4:5-9.

Yang sun Y, Qu X, Zhang X, Caruana G, Bertam J, Li J. Glomerular endothelial cell injur and damage precedes that of podocytes in adriamycin induced nephropathy. J PloS One. 2013, 8 (1):e55027.

Yang, C. and wang, z. (1993) tea and cancer. J. natl. cancer Inst.; 85: 1038-1049.

Yokota, T., Nishio, H., Kubota, Y. and Mizoguchi, M.(1998).The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. Pigment Cell Res. 11(6):355–361.

Zahran , M. M. ; Abdel-Azize K. B. ; Abdel Raof , A. and Nahas , E. M. (2005). The effect of subacute doses of organophosphorus pesticide Nuvacron on the Biochemical and cytogenetic parameters of mice and their embryos. Agre. J. 1,277-283.

Zhang, Q. and Min, Y. (2010). Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice). J. of chromatography A 13,1954-1969.

Summary:-

The study was conducted in the Animal house of biology Department in the College of Education Science Pure – University of Karbala for the period from Decemper 2013 and until the month of August 2014 to know some of liver enzymes levels and some hormonical standard, histological tissue in addition to the cytogenetic resulted from alcoholic extract of Glycyrrhizaglabra roots on white male rats dealt with mitomycin – c drug. The study was conducted in the animal house of biology department in the collage of education science pure – university of karbala , has been the use of male rats number 75 male and randomly divided into five aggregates comprising (15 animals per group) the first group is negative control group is positive control group and it dosage oraly by mitomycin – c with 2mg/kg of body weghit for months , the third group dosage animals by alcoholic extract of Glycyrrhiza glabra roots with 500 mg/kg of body weghit before the mutayen with two weeks and for months , the fourth group dosage oraly with alcoholic extract of gly roots with 500 mg/kg of weghit body with mutagen for month , the fifth group dosage oraly with alcoholic extract of gly roots 500 mg/kg of weyhit body after the mutagen with two weeks and for months , and then with drawing the blood from these rats with above mention pathological effects occurred in the standard of this study , then measured hormones levels is testeroneharmone (Te) , triiodo thy ronineharmone (T3) , thyroxiuharmone (T4) , luteinizing harmone (LH) theresultsshows decreas ($P< 0.05$) in(T3,T4,LH) without any effect in (T) hormone for to positive control compared with negative control while the liver's enzymes , Aspartate – aminotransferase (AST) , Alanine aminotransferase (ALT) , Alkaline phosphate (ALP) the results shows increase ($P< 0.05$) in both enzymes AST , ALP while shows decrease ($P< 0.05$) in the ALT

enzymes of positive control compared with negative control , while his to pathological changes to liver tissue includes occurred congestion in the blood vessles with necrosis in hepatocytes and infiltration in the infamentary cells also includes his to logical effect in the kindey occurred bleeding in the interstitial tissue to cortex and medulla regions dealt with occurs necrosis in the renal glomeruli , while dealt with cytogenetic of mitotic index (MI) , chromosomal abberations (CA) in the cells of bone marrow and sperm abnormality (SA) the results shows decrease (P< 0.05) in the MI at rate 1.02 compared with negative control 3.4 also led treatment with mutagen increase (P<0.05) in all CA and SA atrate (35.13 , 620.26) respectively comparision with negative control (3.62 , 154.78) while when the interaction between 500 mg/kg of plant extract and 2mg/kg of MMC was making in three forms of treatment of extract (before , with , after) mutagen MMC to assess extract activity in decrease drngaction in the standards studied , the results of hormones shows decrease (P< 0.05) in T , T4,LH hormones without any effect inT3 when treatment with extract (after) mutagen while led to increase (P< 0.05) in T3without any effect inT4,T,LH when treatment by the extract (with) the mutagen, while treatment (before) the mutagen recorded decrease (P< 0,05) in T4 and increase(P<0.05)without any effect inT3,T while the Liver enzymes shows decrease (P< 0.05) in AST enzyme also result recorded decrease (P< 0.05) in ALT,ALP enzymes in treatment(after,with)mutagen without any effect in ALT,ALP in treatment(before)mutagen compare with positive control . while the results of cytogenetic study of MI mice which treated with the extract (with , after) the mutagen performed a best result in the raising of median MI to 6.98 , 24.56 respectively compared with the positive control 1.02 at asignificant differences while the extract (before) the mutagen leds to raising the rate of MI to 4.44 compared with positive control . the result

of chromosomal abbearations of mice bone marraw cells lower rate of abnormalties of treatment (before , with , after) the mutagen to (23.36 , 18.09 , 32.05) at asignificant differences compared with positive control 35.83 as atreatment with extract (after) abest result in lower of median abnormalties , the results of sperms abnormalities shows lower in the rate of abnormalities to (576.78 , 458.30 , 508.31) when treated with extract (before , with , after) the mutagen at asignificant differences compared with positive control 620.29 as treatment the extract (with) the mutagen a best in lower of median abnormalities of sperms . finally the test of changing in pathological tissue , the results of microscopically examination of liver and kidney tissues mice which treated with the extract (before,after) the mutagen a good improvement in both tissues.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University ofKarbala
College of Education for Pure Sciences
Department of Biology

Effect of ethanol extract of *root Glycyrrhiza glabra* plant in liver enzymes levels and some histological and hormonical and Genetic standards in males white rats Induced Mitomycin-C

By
Doaa abdul Kareem Hamza
B. Sc. Biology / 2012

A Thesis submitted to the College of Education Pure Science ofKarbala University as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Biology – Zoology

Supervised By

Pro.Ass.Dr.
Sattar Hatrosh

April /2015