وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء / كلية التربية

دراسـة تأثير المستخلصات الخام لنبات عين البزون *Vinca rosea* فـي نمـو بعض خطـوط الخلايا السرطانية والطبـيعية لبعض اللبائن خارج الجسم

رسالة تقدمت بها
لقاء حسون صكبان الجبوري
إلـــــى
مجلس كلية التربية بجامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير فـــي
علوم الحياة /الحيوان

أ.د.ناهي يوسف ياسين
أ.م.د.هادي رسول حسن

1427 هـ
2006 م

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

{الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْداً وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلاً وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجاً مِنْ نَبَاتٍ شَتَّى }

صدق الله العلي العظيم

(طـه – آية 53)

{ إقرار المشرفين }

نشهد بان رسالة الماجستير الموسومة " دراسة تاثير المستخلصات الخام لنبات عين البزون *Vinca rosea* في نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية لبعض اللبائن خارج الجسم " أعدت تحت إشرافنا في جامعة كربلاء/ كلية التربية والمركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية بالمواد وطرائق العمل وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علوم الحيوان

التوقيع :

اسم المشرف : د. هادي رسول حسن

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء / كلية التربية

التاريخ:

التوقيع :

المشرف :د.ناهي يوسف ياسين

المرتبة العلمية :استاذ

العنوان : المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية /الجامعة المستنصرية

التاريخ:

توصية رئيس قسم علوم الحياة

استناداً الى التوصيات المتوفرة ارشح هذه الاطروحة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الراي فيها .

التوقيع :

الاسم : د. ستار جاسم حتروش

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

التاريخ: / /2006

توصية رئيس لجنة الدراسات العليا

التوقيع :

الاسم :د.صباح واجد علي

المرتبة العلمية :مدرس

التأريخ : / /2006

قرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بعد أن قرأنا هذه الأطروحة واختبرنا الطالبة لقاء حسون صگبان في محتوياتها وفيما له علاقة بها ووجدنا بأنها جديرة بالقبول بدرجة (امتياز) لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

رئيس اللجنة:
التوقيع :
الاسم: د. سعد محمد الندا
الدرجة العلمية: استاذ مساعد
العنوان: وزارة العلوم والتكنولوجيا
التاريخ: / 6 / 2006

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم: د.أحمد حميد العزام
الدرجة العلمية: مدرس
العنوان: كلية الطب /جامعة الكوفة
التاريخ: / 6 / 2006

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم: حيدر هاشم محمد علي
الدرجة العلمية: استاذ مساعد
العنوان: جامعة كربلاء /كلية العلوم
التاريخ: /6 /2006

عضو اللجنة
التوقيع:
الاسم: د. ناهي يوسف ياسين
الدرجة العلمية: أستاذ
العنوان: المركز العراقي لبحوث السرطان الطبية
التاريخ: /6 /2006

عضو
التوقيع:
الاسم: الدكتور هادي رسول حسن
الدرجة العلمية: أستاذ مساعد
التاريخ: / 6 /2006

مصادقة عمادة كلية التربية

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع:
الأسم: د. حسين كاظم حسون قطب
الدرجة العلمية: أستاذ مساعد
التاريخ: / 6 /2006

الإهداء

إلى والدي ... وفــاءً

إلى إخوتي وأخواتي ... شكراً

إلى كل مَن مدَّ لي يد العون ... إحساناً

أهدي جهدي المتواضع

لقاء

بِسمْ اللهِ الرَحمنْ الرَحيمْ

شكر وإمتنان

الحمد لله المحمود لجميع المحامد على جميع النعم والصلاة والسلام على محمد وآله الأطهار الكرام أما بعد ... وبحثي يقترب من تمام إنجازه بعونه تعالى ، أتقدم ببالغ شكري وعظيم إمتناني إلى أستاذيّ الفاضلين الأستاذ الدكتور ناهي يوسف ياسين والدكتور هادي رسول حسن لإقتراحهما مفردات خطة البحث وإشرافهما ودعمهما المعنوي لي طيلة مدة البحث لذا حقَّ علي شكرهما مقروناً بدعائي أن يوفقهما الله وييسر لهما طريق العلم .

كما أتقدم ببالغ شكري إلى رئاسة جامعة كربلاء وعمادة كلية التربية وأخص بالذكر الدكتور حسين كاظم قطب عميداً والدكتور صباح واجد معاون العميد للشؤون العلمية وإلى رئيس وأساتذة قسم علوم الحياة في كلية التربية – جامعة كربلاء لما قدموه لي من دعم وتوجيه.

كما أتقدم بفائق الشكر والتقدير إلى المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية لما قدمه من دعم وتسهيلات وتوفيره كافة مستلزمات البحث كما أتقدم بوافر الشكر والامتنان إلى كادر المركز أعلاه واخص بالذكر الدكتور شلال مرا د والدكتور أحمد ألشمري والدكتور فراس الطائي والآنسة أسماء المختار والآنسة توحيد فاضل والسيد علي حسين علوان والآنسة عابدة الكبيسي والسيدة سؤدد عبدالستار والآنسة رشا عبد الأمير.

وأتقدم بعظيم شكري وتقديري إلى الأخت العزيزة الدكتورة هند حسين الدليمي والأستاذ ياسر حسين الجريصي والدكتور حامد ناجي والدكتورعبد الله إبراهيم والأستاذ مثنى عبد القادر والدكتورة رغد ضياء لوقوفهم إلى جانبي طيلة فترة البحث .

كما أتقدم بالشكر والتقدير إلى زملائي وزميلاتي طلبة الدراسات العليا الذين مثلوا بحق الأخوة الصادقة وأخص بالذكر إيمان هاشم ومصطفى نهاد وريم خالد وأشواق عبد والأخت سحر وهيثم لطيف ويسرى عزيز .

وأقدم شكري وامتناني إلى عائلتي الكريمة والتي تحملت معي الكثير من اجل أنجاز هذا البحث .

وختاماً إلى كل مَن مدّ يد العون وساهم في إنجاز بحثي

سائلةً المولى عز وجل أن يعم نفعه .

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية محورين أساسين ، تضمن الأول التحري عن التأثير السمّي الخلوي لمستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) بنوعيها المائية والكحولية في خط خلايا سرطان الحنجرة البشري Hep-2 وخلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري AMN-3 ، وتضمن المحور الثاني دراسة التأثيرات السمّية للمستخلصات نفسها في إنقسام الخلايا اللمفاوية ، ومدى قدرتها على تحفيز إنقسام تلك الخلايا ، ومن ثم قدرتها على إيقاف إنقسامها .

توصلت الدراسة إلى وجود تاثير سمي واضح لمستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في الخلايا السرطانية المدروسة (AMN-3 , Hep-2) تمثل بإنخفاض النسبة المئوية لحيوية الخلايا مقارنةً بمعاملة السيطرة ، وقد إعتمد التأثير على التركيز المستخدم ومدة التعريض ، مع ملاحظة وجود علاقة طردية بين إرتفاع نسبة تثبيط النموالعامِلَين السابقين ، ومع هذا حفَّزت التراكيز الواطئة (للمستخلصات المائية والكحولية) المستعملة في هذه الدراسة من نمو وتكاثر خلايا AMN-3 ، وظهر ذلك واضحاً من خلال إرتفاع النسبة المئوية لحيوية الخلايا مقارنةً بالسيطرة .

لم تظهر تأثيرات سمّية على خطوط خلايا جنين الجرذ الطبيعية (REF) عند المعاملة بالمستخلصات المائية ، بينما سبّبت المستخلصات الكحولية إنخفاض حيوية تلك الخلايا وبصورة معنوية مقارنةً مع السيطرة .

لم يكن للمستخلصات المستعملة تأثيراً سمّياً تجاه نمو الخلايا اللمفاوية البشرية المُحفَّزة على الإنقسام بواسطة المادة المُشطِّرة (PHA) ، لكنها عملت على إيقاف إنقسام تلك الخلايا بطورها الإستوائي مما رفع من قيمة معامل الإنقسام الخيطي (MI) ، وقلّل بالمقابل قيمة معامل التحول الأرومي (BI) .

لم تملك المستخلصات المدروسة جميعها فعالية مُحفِّزة لإنقسام الخلايا اللمفاوية في الزجاج (*in vitro*) .

تمكنت المستخلصات من إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي ، إذ لم تقل كفاءة عملها عن مادة الكولسيمايد (Colcemid) وإنما كانت أكفأ منها عند إستعمال مستخلص الأوراق بنوعيه المائي والكحولي .

قائمة المحتويات

	الصفحة
الفصل الأول المقدمة	
	1
الفصل الثاني إستعراض المراجع	
	4
	4
	4
	4
	5
	5
	6
	6
	7
	7
	7
	7
	8
	8
	8
	9
	9
	9
	10
	11
	12
	13
	13
	14
	15
	15
	15
	16
	17
	17
	18
	20
	22

23	
25	
26	
26	
27	
28	
28	
30	
30	
32	
32	
32	Vincristine
33	Vinorelbine
33	
	الفصل الثالث المواد وطرق العمل
34	
34	
35	
36	
37	
37	
37	
37	
37	
37	
37	(RPMI- 1640)
38	(PBS)
38	
38	
38	
38	
38	
39	
39	
39	RPMI-1640
39	
39	(Heparin
39	Phytohaemagglutinin (PHA)
39	
40	
40	
40	
40	
40	
40	(Hep-2)

41	(AMN-3)
41	(REF)
41	
41	
42	
42	
43	
43	
43	
43	
43	
44	
44	
44	
45	
45	
45	
45	
46	
47	
48	
48	
48	
48	
48	
49	
49	
49	
50	
50	
50	(BI)
50	(MI)
51	
	الفصل الرابع النتائج
52	
52	
52	)
53	

53	
54	(Hep-2
54	(
57	(
60	
63	(AMN-3
63	(
67	(
70	
73	(REF)
76	
76	(
78	(
80	
80	
80	(
80	(BI)
80	(MI)
82	(
82	(BI)
82	(MI)
84	
84	
87	
87	(
89	(
91	
91	
	الفصل الخامس المناقشة

93	
96	
99	
100	

قائمة الجداول

الجدول	الصفحة
جدول (4-1) النسب المئوية للإستخلاص الخام للأجزاء الثلاث من نبات عين البزون	52
جدول (4-2) الكشف الكيميائي التمهيدي (الإستدلالي) لمستخلصات نبات عين البزون	53
جدول (4-3) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء .	81
جدول (4-4) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في معامل الإنقسام الخيطي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء .	81
جدول (4-5) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء.	83
جدول (4-6) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في معامل الإنقسام الخيطي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء.	83
جدول (4-7) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي في دم الأشخاص الأصحاء .	88
جدول (4-8) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي في دم الأشخاص الأصحاء .	90

قائمة الأشكال

الشكل	الصفحة
الشكل (1) تأثير المستخلصات المائية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .	55
الشكل (2) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون المائية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) .	56
الشكل (3) تأثير المستخلصات الكحولية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة.	58
الشكل (4) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون الكحولية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) .	59
الشكل (5) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون في خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) .	61
الشكل (6) تأثير المستخلصات المائية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .	65
الشكل (7) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون المائية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) .	66
الشكل (8) تأثير المستخلصات الكحولية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .	68
الشكل (9) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون الكحولية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) .	69
الشكل (10) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون في خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) .	71
الشكل (11) تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا الجرذ الجنينية (REF) بعد (72) ساعة من التعريض .	74
الشكل (12) مقارنة التأثير السمي لمستخلصات نبات عين البزون المائية في أنواع خطوط الخلايا المدروسة (REF , AMN-3 , Hep-2) .	77
الشكل (13) مقارنة التأثير السمي لمستخلصات عين البزون الكحولية في أنواع خطوط الخلايا المدروسة (REF , AMN-3 , Hep-2) .	79
الشكل (14) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية.	85
الشكل (15) مقارنة تأثير مستخلصات عين البزون المائية والكحولية في معامل إنقسام ا لخلايا اللمفاوية.	86
الشكل (16) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي .	88
الشكل (17) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي .	90
الشكل (18) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي .	92

قائمة الصور

الصورة	الصفحة
صورة (1) تمثل نبات عين البزون نامياً بشكل طبيعي في أحد الحدائق في بغداد	27
صورة (2) مقارنة بين خلايا Hep-2 في معاملة السيطرة (غير المعاملة) مع أخرى تمت معاملتها بالمستخلصات الخام لنبات عين البزون ، عند التركيز (1000) مكغم/مل (crystal violet, 400 X)	62
صورة (3) مقارنة بين خلايا AMN-3 في معاملة السيطرة (غير المعاملة) مع أخرى تمت معاملتها بالمستخلصات الخام لنبات عين البزون ، عند التركيز (1000) مكغم/مل (crystal violet, 400 X)	72
صورة (4) مقارنة بين خلايا REF في معاملة السيطرة (غير المعاملة) مع أخرى تمت معاملتها بالمستخلصات الخام لنبات عين البزون ، عند التركيز (1000) مكغم/مل (crystal violet, 400 X)	75

قائمة المختصرات	
ALL	Acute lymphocytic leukemia
AMN-3	Ahmed-Mohammed-Nahi-2003
ATP	Adenosine triphosphate
BI	Blast index
CML	Chronic myelocytic leukemia
DM	Double minute chromosome
DNA	Deoxyribose nucleic acid
EBV	Epstein-Barr virus
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
G1 - phase	Gap-1 phase
G2 - phase	Gap-2 phase
Hep-2	Human larynx epidermoid carcinoma
HPV	Human papilloma virus
HSR	Homogenous staining regions
MI	Mitotic index
M - phase	Mitosis phase
PBS	Phosphate buffer saline
PHA	Phytohaemagglutinin
REF	Rat embryo fibroblast
RPMI	Ross-Park Memorial Institute
SCE	Sister chromatid exchange
SFM	Serum free media
S - phase	Synthesis phase
XP	Xeroderma pigmentosum

قائمة المصطلحات	
Actinomorphic	تناظر شعاعي
Angiogenesis	عملية تكوين الاوعية الدموية
Antagonistic	تأثير تضادي
Apoptosis	الموت المبرمج
Arrest phase	طور السكون
Benign tumors	أورام حميدة
Bioantimutagen	مضادات التطفير الحيوية
Carcinogenes	المسرطنات
Carcinomas	سرطانات الأنسجة الطلائية
Cell lines	خطوط الخلايا
Chromosomal aberrations	تغيرات كروموسومية
Complete remission	مرحلة الشفاء التام
Dedifferentiation	إزالة التمايز
Deletion	الحذف
Desmutagen	مثبطات التطفير المباشرة
Dicotyledons	نباتات ذوات الفلقتين
Endometrial cancer	سرطان بطانة الرحم
Fibroblast	أرومة ليفية
Free radicals	الجذور الحرّة
Gastrointestinal cancer	سرطان القناة الهضمية
Gene amplification	تضخيم الجين
Germ cells	الخلايا الجرثومية
Hepatocellular carcinomas	سرطان الكبد
Hermophrodite	خنثية
Hyperplasia	فرط التنسج
Initiation	مرحلة النشوء
Inversion	الإنقلاب
In vitro	في الزجاج (خارج الجسم الحي)
In vivo	داخل الجسم الحي
Leukemia	إبيّضاض الدم

Lymphoma	سرطان العقد اللمفاوية
Malignant tumors	أورام خبيثة
Mature cell	الخلية الناضجة
Metastasis	الإنبثاث
Microtubules	النبيبات الدقيقة
Monoclonal antibodies	الأضداد وحيدة النسيلة
Nasopharyngeal carcinoma	سرطان الأنف والحنجرة
Promotion	مرحلة التعزيز
Reactive oxygen species	جذور الأوكسجين الحرة
Retinoplastoma	سرطان الأرومة الشبكية
Sarcomas	سرطانات الأنسجة الضامّة
Stem cells	الخلايا الجذعية
Synergistic	تأثير تعاوني
Tissue culture	الزراعة النسيجية
Transcription	عملية الإستنساخ
Transformation	التحول الخلوي
Translocation	الإنتقال

الفصل الأول

المقدمة

المقدمة

برز السرطان بوصفه أحد المسببات الرئيسة للوفيات في العالم ، إذ يعد من الأمراض الخطيرة التي تقضي على حياة الملايين من البشر سنوياً ، ويصيب السرطان رجلاً واحداً من بين كل إثنين منهم خلال فترة حياتهم ، ويصيب إمرأة واحدة من ثلاث منهن ، في حين يسبب وفاة إمرأة واحدة من بين كل أربع منهن (American Cancer Society,2002) ، لذلك بذل العلماء والباحثون جهوداً كبيرة من أجل تطوير أساليب وأنواع العلاجات ، محاولةً منهم للقضاء عليه وإنقاذ حياة الإنسان . لكن بالرغم من ذلك فإن السرطان يقضي على حياة خمسة ملايين شخص سنوياً في العالم (الحسني ،2000) ، وقد قدرت الجمعية الأمريكية للسرطان الوفيات الناتجة عنه في الولايات المتحدة الأمريكية بأكثر من 570 ألف حالة وفاة في عام 2005 (American Cancer Society,2005) .

أما في العراق فقد تضاعفت أعداد المصابين بهذا المرض الوبال إلى ما يقارب العشرة أضعاف وأكثر خلال الخمسة عشر سنة الماضية لتصل إلى 10888 حالة في العام 2000 حسب ما أشارت إليه السجلات الإحصائية الصادرة عن الجهات الصحية ذات العلاقة (Ministry of Health ,2001) .

ظلّ السرطان عصياً على العلماء بالرغم من وجود عدة أساليب للعلاج ، فهناك العلاج الكيميائي والفيزيائي والجراحي ، لكن لم تكن هذه العلاجات مقنعة للأطباء ولا للمريض نفسه . لذلك إتجهت المراكز البحثية والباحثون إلى إيجاد علاجات بديلة أخرى للعلاجات الحالية ، و إتخذت منحى آخر ربما يكون فيه الأمل الكبير للقضاءعلى هذا المرض .

تكلف الأدوية التجارية مبالغ كبيرة في استيرادها فضلاً عن أن إستعمالها المستمر في العلاج يفقدها فعاليتها تدريجياً بسبب مقاومة الخلايا السرطانية لها (Murray,1996) ، لذا أولت الكثير من دول العالم اهتماماً كبيراً بنباتاتها باعتبارها المصدر الطبيعي للأدوية ، كما كشف الاهتمام المتزايد بدراسة النباتات من النواحي التصنيفية والكيميائية والطبية عن إمكانية استعمال الكثير من النباتات البرية والمزروعة في بيئتها الطبيعية بديلاً عن العقاقير المنتجة صناعياً (Diaz-Carballo *et al.* ,2003 ; الخفاجي، 2000) ، إذ تستعمل بعضها بوصفها مضادات مانعة للتخثر ومسكنة للآلام ، فضلاً عن قدرتها على تخفيض السكر وزيادة كفاءة الجهاز المناعي ، ثم إن الكثير من هذه النباتات يمتلك تأثيراً قاتلاً ومثبطاً لنمو أنواع متعددة من الخلايا السرطانية (Puri *et al*.,2000 ; Nammi *et al*.,2003) .

ولغرض دراسة تأثير النباتات في نمو الخلايا السرطانية ، تستعمل حالياً خطوط الخلايا السرطانية في المرحلة الأولى ضمن برنامج تطوير الأدوية المضادة للسرطان في المعهد الوطني للسرطان (National Cancer Institute (NCI في الولايات المتحدة الأمريكية ، إذ تخضع جميع الأدوية المدروسة لمسح شامل يضم 60 خطاً من تلك الخلايا تمثل أنسجة الجسم المختلفة (Takimoto ,2003) .

وقد وُجد أن هناك أكثر من 1000 نوع نباتي يمتلك فعالية مضادة للسرطان بشكل مؤثر، حيث أعطت المركبات المعزولة من النباتات نتائج مثيرة للإعجاب . إن بعض هذه المركبات دُرس بالتفصيل من قبل مختصي الكيمياء الطبية ولايزال هناك عدد كبيرمنها قيد الدراسة (Mukherjee *et al.*,2001) . أما في العراق ، فقد دأب المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية وضمن خطة بحثية شاملة ومنذ سنوات عديدة لدراسة تأثير مستخلصات أنواع مختلفة من النباتات المتوافرة في البيئة العراقية على الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي وداخله وشملت مستخلصات نبات سم الفراخ (العتابي،2001) و اليقطين والزنجبيل والحرمل (Al-Qadoori,2004) والشاي الأخضروالأسود (Saeed ,2004) والسِعِد (الحلي،2004) والهيل (اليعقوبي،2004) والشيح (Al-Dabhawi , 2005) والتين (الغزي،2005) والميرامية (Ibrahim,2005) ، إذ توصلت هذه الدراسات إلى إن لمستخلصات تلك النباتات تأثيرات سمّية في مختلف أنواع خطوط الخلايا السرطانية في الزجاج ، وما زالت البحوث جارية لإختبار فعالية مستخلصات نباتات أخرى ، سعياً ومحاولةً لإيجاد العلاج المناسب للسرطان .

إن إكتشاف الفعالية المضادة للسرطان Anticancer لقلويدات نبات عين البزون أكسبه أهمية طبية كبيرة ، فهذه القلويدات تعد عوامل معالجة كيميائية Chemotherapy agents لمختلف أنواع السرطانات البشرية (Ganapathi and Kargi,1990 ; Lobert *et al.*,1998) ، إذ اكتشف حوالي 75 نوعاً من القلويدات بعض منها ذو فعالية مضادة للسرطان أهمها الفنبلاستين والفنكرستين (Nobel *et al* . ,1958) ، بالإضافة الى إستعمال هذا النبات في معالجة داء السكر (Gragg *et al* . ,1997) . كما أُجريت بحوث عديدة لإستعمال مستخلص النبات في معالجة الأمراض المايكروبية مثل الاسهال والأصابات الجلدية (Kamat *et al.*,1958) .

وتحتل مثبطات الانقسام الاختزالي ومنها قلويدات الفينكا Vinca alkaloids المشتقة من نبات عين البزون (*Vinca rosea* (= *Catharanthus roseus* ، مكانة خاصة بين أصناف العلاج الكيمياوي المستعمله في علاج سرطان الخلايا اللمفاويه من نوعي الهودجكن Hodgkin's lymphomaواللاهودجكن Non-Hodgkin's lymphoma ، ابيّضاض الدم اللمفاوي الحاد Acute Lymphocytic Leukemia ، وورم ويلمز Willm's tumor ،

وسرطان العضلات المخططة Rhabdomyosarcoma ، وسرطان كابوسي Capossi's sarcoma ، وسرطان الثدي Breast cancer ، وسرطان المثانة Bladder cancer ، إذ تضم قلويدات الفينكا المستعملة حالياً كلاً من Vinblastine وVincristine و Vinorelbine . (Glover, 1997 ; Lehne, 2001)

ومن هذا المنطلق ولغرض تعزيز دراسة تأثير مستخلصات النباتات الطبيعية الموجودة في البيئة العراقية ضد بعض خطوط الخلايا السرطانية كخطوة أولى لاستكشاف فعاليتها المضادة للسرطان فقد تم اقتراح هذه الدراسة لتحقيق الأهداف الآتية :

- إجراء دراسة أولية لمعرفة تأثيرالمستخلصات الخام المائية والكحولية لنبات عين البزون *Vinca rosea* الموجود في البيئة المحلية العراقية في تثبيط نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية .
- دراسة تأثير هذه المستخلصات الخام في الخلايا الطبيعية .
- اختبار فعالية هذه المستخلصات في تثبيط انقسام الخلايا اللمفاوية بوصفها بديلاً عن الكولجسين أو كعامل مُحفِز لإنقسام الخلايا اللمفاوية .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

استعراض المراجع

1-2 السرطان Cancer :

1-1-2 تعريف السرطان Definition of cancer :

" السرطان " كتلة غير طبيعية من النسيج ، نموها غير متناسق مع النسيج الطبيعي ويستمر بالنسق نفسه الزائد عن الحد الطبيعي حتى بعد انقطاع المحفز الذي أدى إلى تحفيز هذا النمو (Mac Sween and Whaley,1997) .

والأورام نوعان ، إما أن تكون حميدة Benign أو خبيثة Malignant ، فالورم يدعى بالحميد حين يكون متموضعاً ولا ينتقل إلى مواضع أخرى ، وقابلاً للإزالة بالجراحة الموضعية ، وهذا الورم لا يسبب موت المصاب به في العادة ، إلا انه قد يؤدي إلى بعض التأثيرات الفيزياوية كالضغط على بعض الأعضاء الحيوية نتيجة الزيادة الحاصلة في حجم النسيج ولا تختلف خلايا هذا النوع من الورم عن الخلايا الطبيعية المجاورة لها شكلاً وسلوكاً إلا بشكل طفيف وأحيانا يصعب تميز الخلايا الورمية مظهرياً من الخلايا الطبيعية(Nevidjon , and Sowers,2000).

أما الورم الخبيث فيمكن أن يغزو الأنسجة المجاورة وينتقل إلى مواضع أخرى من الجسم (Metastasis) وله القدرة على الانفصال عن النسيج الأصلي المكون لها والانتقال عن طريق الدم أو اللمف أوتجاويف الجسم المختلفة إلى أماكن أخرى وتكون خلايا هذا الورم مختلفة مظهرياً بشكل تام عن الخلايا الطبيعية ويطلق عليه بالسرطان Cancer ، وعادة يسبب الموت (Martin , 1999) .

تصنف السرطانات إلى ثلاثة أنواع رئيسة ، وفقاً لما أشار إليه (Cooper ,1997) وكالآتي :

1- سرطانات ألأنسجة الطلائية Carcinomas : وتشكل حوالي 90 % من أنواع السرطان في ألإنسان ، وهي تمثل ألأورام الخبيثة التي تصيب الخلايا الطلائية .

2- سرطانات ألأنسجة الضامة Sarcomas : وهي ألأقل شيوعا في ألإنسان ، وهي أورام صلبة تصيب ألأنسجة الضامة (الرابطة) مثل العضلات والعظام والغضاريف والنسيج الليفي

3- سرطانات النسيج الدموي واللمفاوي (ابيّضاض الدم والسرطانات اللمفاوية) وتشكل حوالي 8 % من بين أنواع الأورام الخبيثة ، وتنشأ في الخلايا المكونة لخلايا الدم في نخاع العظم وخلايا الجهاز اللمفاوي .

2-1-2 انتشار السرطان Epidemiology of cancer :

رغم تقدّم الأبحاث ومستويات العلاج فإن نسبة الموت بالسرطان مستمرة بالإرتفاع ، ففي كل عام يصاب بالسرطان في كل العالم ما لايقل عن تسعة ملايين ، وتشكل نسبة الموت بالسرطان عُشُر مجموع الوفيات في العالم (الحسني ، 2000) .

وتشير الإحصائيات إلى زيادة معدلات الإصابة بالسرطان خلال المدة ما بين عام 1970 وعام 1992 ، ثم تبدأ هذه المعدلات بالإنخفاض حتى عام 1995 لتستقر بعدها وصولاً إلى عام 2000 (Weir *et al*.,2003) .

ويعد السرطان المسبب الثاني للوفيات في الولايات المتحدة الأمريكية بعد أمراض القلب ، إذ سُجِّل ما يزيد عن 570000 حالة وفاة في عام 2005 (American Cancer Society ,2005) . أما في العراق فكانت حالات السرطان المسجلة 15186 حالة للأعوام (1976-1980) ، أي بمعدل 3796.5 حالة سنوياً ، وكانت 46636 حالة للأعوام (1980-1990) ، أي بحدود 4663.6 حالة سنوياً، وكانت 62460 للأعوام (1990-1997) ، أي بحدود 8922.85 حالة سنوياً ، وتشير الإحصائيات الحديثة أن هناك تزايد ملحوظ في الإصابة بالسرطان في العقدين الأخيرين ، ليصل إلى 10888 في العام(Ministry of health, 2001) ، لا سيما سرطانات الدم عند الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 15 سنة (Jemal *et al*.,2004) ، وقد تصل نسبة زيادة الإصابة بالسرطان إلى حوالي خمسة أضعاف عما كانت عليه قبل أحداث حرب الخليج (Aitken, 1999) .

2-1-3 مسببات السرطان Causes of cancer:

وتشمل :

2-1-3-1 المسببات الكيمياوية Chemical factors :

ومنها:

2-1-3-1-1 التبغ Tobacco :

أظهرت دراسة أجراها Vineis وزملاؤه (2005) ، شملت 000 500 شخص واستمرت حوالي 7 سنوات ، أن دخان التبغ من العوامل المسببة للسرطان حتى في المدخنين السابقين ، أو ترتبط المواد المسرطنة الموجودة في دخان التبغ بالدنا (DNA) ، مما قد يسبب العديد من أنواع السرطان بما فيها

سرطانات الرئة والتجويف ألفمي ألأنفي والمريّ والحنجرة والبلعوم والبنكرياس و الكبد والكلية والمعدة والجهاز البولي والرحم (Philips,2002 ; Schoket ,2004) .

2-1-3-1-2 ألمشروبات الكحولية Alcoholic beverage:

وضعت بعض المنظمات العالمية الكحول ضمن قائمة مسببات السرطان ومنها البرنامج الوطني الأمريكي لعلم السموم US National Toxicology Program والوكالة الدولية لبحوث السرطان International Agency for Research on Cancer ، وعدّت المشروبات الكحولية أحد العوامل الخطرة المسببة لسرطان الفم والحنجرة والمرئ والكبد (Gronbaek *et al*.,1998 ; Aronson, 2003) ، كما أثبت وجود علاقة بين نوع الكحول المُتعاطى والإصابة بسرطان الفم البلعومي (Boffetta and Garfinkel,1990 ; Kato *et al*.,1992) .

من المعروف أن للمشروبات الكحولية دوراً مهماً في إحداث الإصابة بسرطان الرئة (Carpenter *et al*.,1998) وسرطان الثدي (Morabia,2002) ، وأشارت البحوث أن هذه المشروبات تغير مستويات الإستروجين بالدم إذ إنها تتدخل في عملية إصلاح الدنا وبالتالي تسبب حدوث سرطان الثدي (Reichman *et al*.,1993 ; Ginsburg *et al*.,1996 ; Dorgan, *et al* .,2001) .

أشارت الدراسات الوبائية إلى علاقة هذه المشروبات بسرطان البروستات والمعدة (Ames *et al.* ,1995 ; Barba *et al*. ,2004) . يزيد الكحول من خطر الإصابة بسرطان البروستات عن طريق التأثير في مكونات ووظائف غشاء الخلية مولداً جذوراً حرة Free radicals والتي تؤثر بدورها على عمل الأنزيمات الخاصة بإزالة السمّية ، وتخفّض من مستوى أنزيمات إصلاح الدنا DNA repair كما يضعف من مناعة الجسم (Jensen *et al*.,1996 ; Sesso *et al*.,2001) .

3-1-3-1-2 البنزين Benzene :

من أكثر المواد الكيمياوية التي تسبب مرض إبيّضاض الدم النخاعيني هي مركبات البنزين ومشتقاته ، إذ أشارت العديد من البحوث إلى قدرة البنزين ومركباته على إحداث الطفرة في موقع الجين *p53* ، كما لوحظ إن البنزين يؤدي إلى إلحاق الضرر بالدنا (DNA) للخلايا اللمفاوية في الدم المحيطي للإنسان (Granfield and Bunch,1995) . وأشارت الدراسات إلى أن عوامل الخطورة للإصابة بفقر الدم Anemia تزداد خمس مرات عند التعرض المستمر للبنزين بينما تزداد عوامل الخطورة للإصابة بإبيّضاض الدم النخاعيني الحاد عشر مرات عند التعرض المستمر للبنزين

(Rinsky and Young ,1981) . كما إن التعرض المستمر للبنزين والمواد الكيمياوية المطفرة والمواد المشعة يؤدي إلى حدوث التغايرات الكروموسومية ثنائية المركز Dicentric والذي يعزى إلى إحتمالية وجود خلل في آليات الإنعزال أثناء الإنقسام الخيطي للكروموسومات (العسكري، 2002 ; Shubber and Al-Allak,1986) .

يؤدي التعرض للبنزين ومشتقاته إلى نشوء سرطان الخلايا اللمفاوية وابيّضاض الدم (Nicholson and Landrigan ,1989) . فقد أظهرت نتائج إحدى التجارب التي تم فيها تعريض الفئران DBA/2 إلى تراكيز عالية من البنزين زيادة في معدل حدوث تبادل الكروماتيدات الشقيقة Sister Chromatid Exchange (SCE) في نخاع العظم ، فضلاً عن تثبيط انقسام تلك الخلايا (Tice *et al*.,1980) .

2-1-3-2 المسببات الفيزياوية Physical factors :

وتشمل :

1-2-3-1-2 الإشعاعات المؤينة Ionizing radiation :

تسبب هذه الإشعاعات كسوراً في سلسلتي الدنا DNA ينتج عنها تغيرات كروموسومية Chromosomal aberrations (Lips and Kaina , 2001) وتتمثل بأشعة كاما (Sasaki and Fukuda ,1999) وأشعة اكس X (Nath and Krishna ,1997) .

2-2-3-1-2 ألأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet ray :

تسبب هذه الأشعة تكوين Pyrimidine dimers ، إذ تسبب ارتباط جزيئتي الثايمين أوالسايتوسين المتجاورتين مما يؤثر على ارتباط القواعد المكملة Complementary في سلسلتي الدنا المتقابلتين (Russell ,1987) ، وتسبب ألأشعة فوق البنفسجية سرطان الخلايا المكونه للميلانين malignant melanoma وهو من أشد أنواع سرطان الجلد خطورة Williams and (Ouhtit ,2005) .

3-2-3-1-2 ألأسبستوس Asbestos :

تسبب هذه المادة الموت المبرمج للخلايا Apoptosis بوساطة تحفيز تكوين جذور الأوكسجين الحرة Reactive oxygen species (Broaddus *et al.* ,1996) ، كما تسبب فقدان الكروموسومات Chromosomal loss مما ينتج عنه تغير في آليات السيطرة على النمو وزيادة عدد

ألانقسامات التي تمر بها الخلايا المزروعة في المختبر مقارنة بالخلايا غير المعاملة (Lechner *et al.* ,1985) .

2-1-3-3 العوامل الحياتية Biological factors :

2-1-3-3-1 العوامل الفايروسية

أ- فيروسات التهاب الكبد C وB Hepatitis B and Hepatitis C Viruses

يسببان سرطان الكبد Hepatocellular carcinoma (Perkins and Stern, 1997) ، ويعتقد أن فايروس التهاب الكبدB يسبب السرطان عن طريق إنتاج بروتين يدعى X protein الذي يسبب اضطرابا في انقسام الخلايا لا سيما الحاوية على طفرات مختلفة ، أو عن طريق إحداث ضرر مزمن في الكبد ينجم عنه انقسام مستمر للخلايا (Lee *et al.* ,1995) ، أما فايروس التهاب الكبد C فانه يتسبب في إحداث كسورٍ في سلسلتي الدنا (Machida *et al.* ,2004) .

ب - فايروس الورم ألحليمي البشري Human papilloma virus (HPV) :

إن هذا الفايروس له علاقة بسرطان الرحم وبعض سرطانات الجلد (; 2000 McCance , Pornthanakasem *et al.* ,2001) ، إذ يسبب تحول الخلايا Transformation بوساطة التعبير عن اثنين من الجينات هما(E7, E6) , اللذين يسببان تعطيل *p53* و*pRB* وتحفيز نشاط إنزيم التيلوميريز Telomerase (Munger *et al.* ,2004) .

ج - فايروس إبشتاين – بار (Epstein – Barr Virus (EBV :

يرتبط هذا الفايروس ببعض أنواع السرطان في الإنسان بما فيها Burkitts lymphoma وسرطان الأنف والحنجرة Nasopharyngeal carcinomas وسرطان الخلايا البائية B-Cell lymphomas (Webster-Cyriaque *et al.* ,2000) .

2-1-3-3-2 العوامل البكتيرية Bacterial factors :

وتتمثل ببكتريا *Helicobacter pylori* والتي وجد انها مرتبطة بحدوث سرطان المعدة (Tang *et al.* ,2005) لكن آلية التسرطن غير واضحة ويعتقد أنها تنتج عن استيطان البكتريا للمعدة وبالتالي حدوث الالتهاب والإضرار بالخلايا ومن ثم حدوث السرطان (Blaser Atherton ,2004

and) ، كما إن التأثير للإصابة بهذه البكتريا يمكن أن يعود إلى تكوين جذر اوكسيد النيتريك Nitric acid من خلال تحفيزها إنزيم No Synthase داخل الخلية(Mannick *et al*.,1996) .

2-1-3-3-3 العوامل الطفيلية Parasitic factors :

هناك القليل من الطفيليات التي وجد إن لها علاقة بحالات السرطان ولعل من أهمها طفيلي الـ *Schistosoma haematobium* وطفيلي *Opisthorchis viverrini* فالأول يرتبط بسرطان المثانة والثاني بسرطان ظهارة القناة الصفراوية (Khurana *et al.* ,2005) .كما ذكر (Parkin *et al*.,1993) إن معدلات الاصابة العالية كحالات سرطان ظهارة القناة الصفراوية في شرق وجنوب شرق آسيا مرتبطة مع الإصابة بديدان الكبد *Clonorchis sinensis* و*Opisthorchis viverrini*.

وقد أشار (Mostafa *et al*.,1999) إلى إن الإصابة بـ *S. haematobium* تسبب تهيجاً مزمناً والتهاب المثانة البولية وبالتالي فرط التنسج Hyperplasia ، وزيادة انقسام الخلايا.

2-1-3-3-4 العوامل الفطرية Fungal factors:

يسبب السم الفطري Aflatoxin B1 الذي يفرزه *Aspergillus flavus* سرطان الكبد ، لا سيما عند المصابين بفايروس التهاب الكبدB (Madden *et al.* ,2002) .

2-1-3-3-5 الهرمونات Hormones :

تعد الهرمونات الجنسية من عوامل نمو بعض أنواع الخلايا ، إذ ترتبط بالمستقبلات البروتينية داخل الخلايا ، التي بدورها ترتبط مباشرة بالجينات وتعدل عملية النسخ Transcription ، فبعض هذه الجينات لها وظائف معينة وبعضها مرتبط بالنمو ، فقد وجد أن الأستروجين Estrogen له علاقة بسرطان المهبل Vaginal Cancerفي بنات النساء اللواتي تناولن ألأدوية أثناء الحمل ، وسرطان بطانة الرحم Endometrial cancer في النساء اللواتي تعاطين ألأدوية التي تخفف من أعراض الشيخوخة ، إضافةً إلى سرطان الثدي . أما الاندروجينات Androgens فإن لها علاقة بأورام الكبد لاسيما عند استعمالها بجرع عالية ولفترات طويلة (Kazemzadeh *et al*.,1992; Velkeniers *et al*.,1994) .

2-1-4 الوراثة والسرطان Genetics and cancer

إن فكرة كون الأورام من الأمراض التي لها علاقة بالوراثة والتغيرات الوراثية ليست بالحديثة فقد أشار إليها منذ عام 1840 العالم Hansemann إذ لاحظ أشكالاً شاذة من الأنوية في نسيج ورمي ، تبعه بعد ذلك العالم الألماني Thedor Boveri عام 1914 الذي إقترح فرضية تخصّ علاقة الكروموسومات بنشوء السرطان ، وتم توضيح هذه الفرضية فيما بعد من العالم Wolf,(1974) وكما يلي :

1- إن الخلايا الورمية تنشأ من خلايا النسيج الطبيعي .

2- إن أي ورم ينشأ من خلية واحدة .

3- إن سبب السلوك الشاذ للخلايا الورمية يرجع إلى وجود مادة وراثية شاذة ، ولهذا يكون هذا السلوك غير عائد إلى طبيعة الخلية إنما إلى تغيّر المحتوى الوراثي الجديد .

ومنذ ذلك الوقت أثبت أن السرطان ينشأ نتيجة حدوث خلل في التركيب الوراثي للخلية الطبيعية محوّلاً إياها إلى خلية سرطانية تنقسم بسرعة كبيرة دون هدف معين ودون توقف حيث يصبح الإنقسام الخلوي غير مسيطر عليه ، ولذا عُدّ السرطان حالياً مرضاً وراثياً (Cairns,1981 ; Kundson, 1984 ; Verma and Babu,1989) .

لقد لاحظ العلماء أن جميع المواد المسرطنة هي مواد مطفرة وتهاجم دنا (DNA) الخلية (Yaseen,1990) ، لذا فإن أغلب المعلومات عن الطفرات وعلاقتها بالسرطان جاءت من دراسة الكروموسومات غير الطبيعية للسرطانات المختلفة والجينات الورمية الفايروسية Virus oncogenes وتتبّع وراثة السرطان في العوائل المختلفة ، إذ إن الإستعداد الوراثي للإصابة بالسرطان يكون مصاحباً إلى وجود خلل في عمليات إصلاح الدنا (DNA) ، فقد تمت دراسة وتتبّع وراثة أنواع مختلفة من السرطان في عدد من العوائل كشفت عن وجود تكرار للإصابة بالسرطان بين أفراد هذه العوائل ، ويعدّ سرطان القولون Colon cancer وسرطان الأرومة الشبكية Retinoblastoma من أشهر السرطانات التي ينطبق عليها مبدأ وراثة الأمراض السرطانية (Hansen and Cavenee,1987 ; Kundson,1987) .

تتوارث الأمراض السرطانية في العوائل التي تبدي إستعداداً وراثياً لهذه الأمراض ، إما بنمط الوراثة المندلية Mendelian heredity أو نمط توارث غير مندلي متعدد العوامل Multifactorial non Mendelian heredity(Kundson,1984) .

قد يرتبط ظهور مرض سرطاني معين بمرض سرطاني آخر فمثلاً يرتبط أحياناً ظهور مرض إبيّضاض الدم الحاد مع سرطان الرئة والجلد والغدة الدرقية وسرطان الخلايا المكونة للميلانين

والمستقيم ، ويفسّر العلماء هذا الترابط بالتأثير الكبير للإستعداد الوراثي للفرد للإصابة بالسرطان (Moertel,1977 ; Brady *et al*.,1994) .

تحتوي معظم الخلايا السرطانية على تغيرات كروموسومية قد تعكس التطور متعدد المراحل للخصائص السرطانية (Yunis ,1983) وتشمل الجينات ذات العلاقة بالسرطان كلاً من الجينات الكابحة للورم Tumour suppressor genes والجينات الورمية Oncogenes وجينات إصلاح الدنا DNA repairing genes (Cooney *et al.* ,1997) .

2-4-1-1 الجينات الكابحة للورم Tumor suppressor genes

هذه الجينات تتحكم في بروتينات تثبط الانقسام الخلوي غير المرغوب ، إذ توجد في الخلايا الطبيعية (Russell ,1998) ، ويؤدي حدوث الطفرات في كلتا النسختين التابعتين للجين المثبط للورم إلى تعطيل هذا الجين وبالتالي حدوث السرطان (Lieberman and Lebovits ,1996). ولا يحدث السرطان في حالة فقدان أو حصول طفرة في أحد الأليلين للجين الكابح ، إذ يكفي وجود أليل واحد طبيعي لمنع عملية حدوث السرطان (Kundson,1987) .

ومن أكثر الجينات الكابحة للورم المدروسة هو ألجين *p53* الذي يوجد على كروموسوم 17، ويعمل هذا الجين على كبح الانقسام الاختزالي من دورة حياة الخلية ، إذ يسيطر على انقسامها في مرحلة G1-phase إلى مرحلة S-phase ثم يحفز الخلية على الموت المبرمج Apoptosis، إذ تعدّ الطفرات في هذا ألجين هي الأكثر شيوعاً وانتشاراً بين أنواع السرطانات البشرية المختلفة (Mellors,1999 ; Hill ,2001) .

ومن بين الجينات الكابحة للورم الأخرى التي تم التعرف عليها جين *RB* الذي يعمل على كبح الانقسام الخلوي من خلال تأثيره على عملية تحول الخلية من مرحلة G إلى مرحلة S من دورة الخلية (Kumar *et al.* ,2003) ، وكذلك BPCA2 and BPCA1 (Russell ,1998) .

2-4-1-2 الجينات الورمية Oncogenes :

تعود نظرية الجينات الورمية الى عام 1969 فقد صاغها أول مرة العالمان Huebner and Todaro .إذ إن الجينات الورمية الأولية Proto- Oncogenes تشكّل جزءاً من المجين Genome

الطبيعي إذ تلعب دوراً مهما في تنظيم نمو الخلايا إذ يتحكم بعضها في عوامل النمو والبعض الآخر في مستقبلات عوامل النمو أو نقل الإشارات أو النسخ (Russell ,1998) .

وعند حدوث طفرة في الجينات الورمية الأولية تصبح جينات ورمية تؤدي إلى اضطراب نمو الخلية وإزالة تمايزها Dedifferentiation (Glover , 1997) ، وذلك يتم عن طريق أربع آليات :

1- حصول الطفرات النقطية Point mutations في الجين أو قد تكون أكثر تخصصاً عندما تهاجم الطفرة واحداً أو أكثر من الأحماض الأمينية في التركيب البروتيني لذلك الجين .

2- عن طريق إعادة ترتيب التركيب الوراثي لجينات الأورام من خلال حدوث إعادة ترتيب الكروموسومات Chromosomal rearrangement ، بواسطة الحذف Deletion أو الإنتقال Translocation أو الإنقلاب Inversion .

3- عن طريق تضخيم الجين Gene amplification بتكوين عدة نسخ للجين الورمي الأولي تعمل سوياً مما يؤدي الى فرط الإنتاج ، وتظهر الجينات المضخمّة على هيئة كروموسومات صغيرة الحجم تعرف بالكروموسومات الدقيقة المزدوجة (DM) Double minute chromosomes أو المناطق متجانسة الصبغة (HSR) Homogenous staining regions والتي يمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي .

4- عن طريق إصابة الخلية بالرواشح الراجعة Retroviruses ، إذ يتم حشر Insertion معززات فعّالة Active promoters بالقرب من أو ضمن تركيب جينات الأورام الأولية مما يؤثر على عملها بالشكل الطبيعي ، ولقد تم الإشارة إلى هذه الطرق من قبل الباحثين (Friedeman,1996 ; Martin,1999 ; Mueller,2000) .

وعلى العكس من الجينات الكابحة للورم فان الجينات الورمية عادة ما تكون سائدة ، أي إن نسخة واحدة طافرة من ألجين الورمي كافية للتحول السرطاني الخلوي (Jorde,1999) . ومن أمثلة الطفرات التي تؤدي لتثبيط الجينات الورمية هي الانتقال الكروموسومي الذي يسبب سرطان بيركت اللمفاوي Burkett's lymphoma إذ يظهر عند الأطفال نتيجة للتبادل الكروموسومي في الخلية للكروموسومين 8 و 14 ففي أثناء هذا الانتقال الكروموسومي يتحرك الجين الورمي الأولي Protoncogene الذي يدعى C-myc من موقعه الطبيعي على كر وموسوم 8 إلى مكان جديد على كروموسوم 14 ، وهذا الانتقال غير ملائم إذ يجعل الخلية تنمو بإستمرار دون توقف ، ولهذا يحدث السرطان (Bergh and Sandberg ,1986) و يحدث هذا في إبيضاض الدم النخاعيني

المزمن (Chronic myelocytic leukemia (CML الذي تظهر فيه إنحرافات كروموسومية وهي وجود كروموسوم فيلادلفيا t(9 ; 22) (Nowell and Hungerford,1960) .

2-1-4-3 جينات إصلاح الدنا DNA repairing genes

تؤثر هذه الجينات تأثيراً غير مباشر في تكاثر الخلية وحياتها عن طريق إنتاج مجموعة من الأنزيمات التي تشكل جهاز تصحيح القواعد النتروجينية لدنا DNA الخلية ، وبذلك فهي تعمل على إصلاح الخلل في المادة الوراثية عند حدوث طفرة .

إن حدوث أخطاء في عملية الإستنساخ للدنا DNA وحدوث خلل في الجينات الأخرى التي تشمل الجينات الورمية والجينات الكابحة للأورام ، لا تستحث تكوين خلايا متحولة سرطانية بل إن بقاء الخلل الحاصل في الجينات الأخرى دون تصحيح خلال عملية الإنقسام الطبيعي يؤدي إلى إن يكون هذا الخلل بداية للتحول الورمي (Kumar *et al*., 2003) ، ومن ألأمثلة على الخلل في هذه الجينات هو حدوث مرض جفاف الجلد الملون Xeroderma pigmentosum (XP) ، وهو مرض وراثي ينتج عنه حساسية مفرطة لضوء الشمس وخصوصا الأشعة فوق البنفسجية ويؤدي إلى سرطان الجلد (Lewin ,2000) .

2-1-5 نمو الخلية وانقسامها Cell growth and division

في جميع الكائنات الحية البالغة ، لوحظ أن نمو الخلية وانقسامها لا يتم حدوثهما إلا عندما يتطلب جسم الكائن الحي وجود توازن وتعويض لما يفقده من خلايا نتيجة العمليات الفسلجية الطبيعية أونتيجة عوارض مرضية ، وهذا يعني أن هناك نسبة قليلة جدا من أجمالي الكتلة الخلوية بالكائن هو الذي يخضع لحدوث دورة النمو الخلوية عند وقت زمني معين ، ومن جهة أخرى فان أي خلية من خلايا جسم الكائن الحي (فيما عدا الخلايا العصبية) من الممكن أن تكون عرضة لعمليات التجديد والإحلال بداية من حالة السكون Arrest phase مروراً بجميع خطوات دورة النمو التي يتبعها الانقسام لتكوين خليتين جديدتين متشابهتين تماما للخلية الأم ، تلك المراحل التي تمر بها الخلية من نمو وانقسام ، قد أطلق عليها اسم الدورة الخلوية Cell cycle (Ross ,1997 ; 1994 Sherr ,) .

2-1-5-1 الدورة الخلوية Cell cycle

تعرَّف الدورة الخلوية بأنها المراحل التي تمر بها الخلية الناضجة Mature cell لتكوين خليتين بنويتين Daughter Cells خلال فترة زمنية محددة ، وعادة تبدأ الدورة الخلوية بتأثير عامل معين يحفز بدوره إنتاج بروتينات خاصة عبر مسارات متتابعة ، وبعد انتهاء الدورة تقوم مثبطات بروتينية

بإعطاء الأوامر لوقف الانقسام فأما أن تستجيب الخلايا الناتجة وتدخل في طور السكون أو الراحة (Arrest or G0-phase) أولا تستجيب فتدخل الخلايا في طور (G1-phase) لتبدأ من جديد دورة خلوية ثانية وهكذا ، وان هذه الأحداث المتداخلة تقع تحت سيطرة جينية خاصة تنظم العملية بكاملها (Ruddon , 1981 ; Turner *et al*. , 2000) .

تختلف الخلايا فيما بينها من حيث قدرتها على الانقسام وهذا يعتمد على نوع الخلية ، فمثلا الخلايا العصبية والعضلية وكريات الدم الحمر فقدت القدرة على الانقسام ، في حين أن خلايا الجلد تنقسم كل (2-3) أسابيع أما الخلايا اللمفاوية فأنها تنقسم عند تعرضها لمستضد معين (Fox, 2002) ، كذلك تختلف الفترة الزمنية اللازمة للإنقسام فقد تستغرق (30) دقيقة فقط في الخلايا الجنينية أو تستغرق (8) ساعات كما في خلايا نخاع العظم (Karp, 1984 ; Ross , 1997) .

تشمل الدورة الخلوية مرحلتين أساسيتين هما تضاعف ألدنا DNA (DNA Replication) بعدها تأتي مرحلة الانقسام الخلوي Cell division لتكوين خليتين جديدتين بنويتين ، وتشمل عدة اطوار هي :

1- G1-phase **(** Gap1-phase**)** : وهي المرحلة الواقعة بعد الانقسام المايتوزي وقبل مضاعفة الحامض النووي حيث يزداد حجم الخلية وتستعد لمضاعفة الدنا DNA .

2- S -phase (Synthesis phase) : ويتم في هذا الطور مضاعفة وصنع الدنا (DNA) .

3- G2-phase (Gap2- phase) : تتهيأ الخلايا في هذه المرحلة للانقسام إلى خليتين جديدتين .

4- M -phase (Mitosis phase) : وهي المرحلة التي تحدث فيها عملية الانقسام الميتوزي وهناك أربع مراحل مختلفة تحدث للكروموسومات وهي الطور التمهيدي Prophase والطور الاستوائي Metaphase والطور الانفصالي Anaphase والطور النهائي Telophase .

6-1-2 علاج السرطان Treatment of Cancer

2 -1-6-1 العلاج الجراحي Surgical therapy :

يعدّ من أقدم أنواع العلاجات المتاحة للسرطان (Barclay, 2000) ، ويستعمل بكثرة في علاج الأورام الصلبة Solid tumor ، وتعالج الأورام جراحياً عن طريق إستئصال الورم ، لكن يمكن أن

يعود الورم للظهور بعد سنوات لا سيما إذ ما بقيت بعض الخلايا السرطانية (Bourgaize ,2000 *et al.*) . إذ يمتد الورم أحياناً إلى مسافات أبعد بسبب التوسع الحاصل للورم Tumor expansion ليحتل مواقع أخرى في النسيج نفسه أو قد يتعداه إلى نسيج آخر ، لذا فقد لايشمل الإستئصال كل الورم ، إما لصعوبة المكان ، أو إن إزالة الورم بشكل كامل قد تؤدي إلى فقدان وظيفة فسلجية معينة في الجسم (Pollock and Morton, 2000) .

2-1-6-2 العلاج الإشعاعي Radiotherapy :

يستخدم ضد أنواع السرطانات الموضعية إذ يحتاج حوالي نصف مرضى السرطان إلى العلاج الإشعاعي في مرحلة ما من مراحل المرض (Glover ,1997) ويستعمل عادةً بصورة مشتركة مع العلاج الجراحي أو الكيمياوي ، وتشمل الإشعاعات المستخدمة أشعة أكس أو أشعة كاما أو الالكترونات أو البروتونات أو الأيونات الثقيلة أو النيوترونات أو جزيئات ألفا (Parker, 2000) .

يؤثر الإشعاع على المادة الوراثية (DNA) بوساطة تكسير خيطا الحلزون أو حصول تداخل ما بين أشرطة الدنا والبروتينات الكروموسومية ، كما يؤثر الإشعاع على دورة حياة الخلية ، وخاصة طوري G2 و M ، مما يؤدي إلى توقف انقسام الخلية . تساعد الإشعاعات المتأينة على تكوين الجذور الحرة Free radicals التي تكون سامة للخلية مما يسبب موتها (Maher , 2000) .

غالباً ما يكون العلاج الإشعاعي مؤذياً للنسيج الطبيعي وله العديد من الآثار الجانبية الحادة التي تظهر أثناء مدة المعالجة وتشمل أغلب الأعضاء الحيوية كحصول إلتهاب الكبد وإلتهاب الرئة وغيرها من الآثار الجانبية المزمنة التي تظهر بعد الإنتهاء من العلاج كفشل الأعضاء والتليّف فضلاً عن تأثيراته المسرطنة بسبب إضراره بالدنا DNA ، كما إنه يثبط نخاع العظم ويسبب له تلفاً دائمياً ويظهر بعض الأضرار الجانبية الأخرى كالإعياء وإلتهابات الفم وتساقط الشعر (Lichter, 1994) ، وقد لوحظ زيادة حدوث مرض إبيضاض الدم في الأشخاص الذين يتعاطون العلاج الإشعاعي وحتى في الذين يعملون في مجال الإشعاعات Radiologists ، إذ يصابون بمعدل (8-10) مرات أكثر من الذين لايعملون في هذا المجال (Boyd, 1970) .

كذلك يؤثر الإشعاع سلباً وبشكل مباشر على عملية تكوين الأوعية الدموية الجديدة للسرطان (Angiogenesis) ، إذ تؤدي الأشعة إلى انهيار الأوعية الدموية للخلايا السرطانية وتخثر الدم فيها Vascular collapse and thrombosis (Mundt *et al.* , 2000) .

3-6-1-2 العلاج الكيمياوي Chemotherapy :

إن الغرض من العلاج الكيمياوي هو محاولة التخلص من الخلايا الورمية الخبيثة غير الطبيعية والوصول الى مرحلة الشفاء التام Complete remission (Chessells *et al*. ,1995) ، وهو مفيد في حالات الأورام المنتشرة مثل مرض إبيّضاض الدم Leukemia (Vincent *et al*. ,1981) .

إن من أسباب فشل العلاج الكيميائي في بعض الأورام هو مقاومة الخلايا السرطانية للمادة العلاجية ، لأن المادة الوراثية للخلية السرطانية غير ثابتة ، كما إن هذا العلاج يعمل على قتل الخلايا الدفاعية الطبيعية في جسم المريض ، وبذلك نلاحظ هبوط في الجهاز المناعي لدى المرضى ، إضافةً إلى الأضرار الجانبية التي يسببها لهم مثل تساقط الشعر والإضطرابات الهضمية وفقدان الشهية (Ackerblom *et al*. ,1986) . كما تقوم الأدوية المضادة للسرطان بعرقلة العمليات الأيضية للخلايا خصوصاً الخلايا التي تنقسم بصورة سريعة مثل خلايا نخاع العظم Bone marrow والخلايا المولدة الجرثومية Germ cells والخلايا الجذعية stem cell ، وتسبب ضرراً للمادة الوراثية للخلايا الطبيعية أي إحداث طفرات جديدة مسببة أنواع أخرى من السرطانات (Rang *et al*.,1999 ; Skeel,1999) .

4-6-1-2 العلاج المناعي Immunotherapy :

الهدف منه تقوية الجهاز المناعي ضد الخلايا السرطانية وتوجيه أسلحته ضدها عن طريق تحفيز استجابة مناعية ضد مستضدات الخلية السرطانية المتخصصة (Gaynor and Fisher,1994 ; McGavin and Spencer,2001) .

إن من أهم العلاجات المناعية هو الأجسام المضادة وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies ، إذ لها استعمالات عديدة خارج الجسم الحي *in vitro* التي تشمل متابعة الاستجابة المناعية للعلاجات والتحري عن الطبيعة النسيجية للأورام الخبيثة ومتابعة تطور المرض عند الأشخاص المصابين وتمييز بعض الأورام الخبيثة غير معروفة الأصل ، أما أهمية الأجسام المضادة وحيدة النسيلة داخل الجسم الحي *in vivo* فتتجلى في إحداث انحلال النشاط الورمي في كل من

سرطان العقد اللمفاوية Lymphomas و سرطان الثدي Breast cancer وسرطان القناة الهضمية Gastrointestinal cancer وبعض أنواع سرطان إبيّضاض الدم Leukemia , (Bast *et al.* . 2000)

5-6-1-2 العلاج الجيني Gene Therapy :

ويهدف إلى معالجة الأمراض عن طريق إصلاح الخلل الحاصل في المادة الوراثية وذلك بنقل ألجين السليم بشكل مؤقت أو دائم إلى داخل الخلية المعطوبة ليحل محل ألجين التالف أو بتعويض المادة البروتينية المفقودة (Kufe *et al.* , 2000) .

وهناك طريقتان لإدخال الجين الهدف (الجين المراد نقله) Target gene ، أحداهما تتم بصورة مباشرة Transduction بإستعمال تقنيات الهندسة الوراثية المعهودة ، أما الطريقة الثانية فتسمى Transfection ويتم فيها إستعمال ما يسمى الفايروسات الراجعة Retroviruses التي تحمل الجين إلى الخلية السرطانية ليشفر بروتيناً قاتلاً لها وذلك إعتماداً على تقنيات الهندسة الوراثية (Bourgaize *et al.* , 2000) .

لكن صعوبة التلاعب في المادة الوراثية للخلية ، فضلاً عن صعوبة نقل الجينات المرغوب بها بالشكل الذي يمكن التعبير عنها وراثياً Genetically expressed تحدّ من تعميم هذا العلاج (Agha and Lotze, 2000) .

7-1-2 الزرع النسيجي وإستعماله في فحص الفاعلية ضد السرطان

يعرّف الزرع النسيجي Tissue culture بإنه عملية تنمية الأنسجة أو الخلايا خارج الجسم الحي *in vitro* وتتطلب توافر جميع المتطلبات الغذائية مع عوامل النمو Growth factor والتي تساعدها على الإستمرار بالإنقسام والنمو ، كما لو كانت داخل الجسم الحي *in vivo* (Butler, 1996) .

لقد أصبحت تقنية زرع الخلايا الحيوانية في الوقت الحاضر واسعة الإستعمال في تطبيقات التقنية الحيوية ، وتتم هذه التقنية إما بزرع قطعة النسيج الحيواني كاملةً Tissue culture ، أو بزرع خلايا مفردة Cell culture حيث يتم تفريق النسيج ميكانيكياً او انزيمياً ليعطي مجموعة من الخلايا المفردة ، وفي كلتا الحالتين يكون مصير الخلايا المتولدة من الزرع إما الموت او الإستمرار بالنمو لتنتج أعداداً كبيرةً من الخلايا لتكوّن الزرع الاولي Primary culture (Easty *et al* ., 1981) . وقد يتحول

الزرع الاولي الى خط خلايا Cell line عندما تكون للخلايا القابلية على الإنقسام والتجدد ، وإذا إزداد عدد الخلايا بأن تشغل كل المساحة المتاحة لها حينها يحتاج الزرع إلى عملية تمرير ، وهذه العملية ضرورية للخلايا إذ تساعدها على تقليل كثافة الخلايا مما يعزز إنقسامها ويكون عاملاً مساعداً على إستمرار الخط (Moore *et al*., 1955) .

إن أول تمريرة للزرع الأولي تمثل تحولاً مهماً له ليصبح خط خلايا Cell line (Tom *et al*., 1976) .

كذلك وجد إن الخلايا المشتقة من الأنسجة الجنينية تنمو بصورة أفضل من الأنسجة الكاملة ، وربما يعود السبب في ذلك إلى إحتواء الأنسجة الجنينية على خلايا جذعية Stem cells ، مما يعطي خلاياها قدرة عالية وكبيرة على الإنقسام والنمو ، وكذلك الأنسجة التي تعاني من تجددّ مستمر داخل الجسم مثل الأمعاء والبشرة والدم ، فإن زرعها يكون ممكناً وربما يستمر بصورة غير محددة (Freshney, 1994) .

توفر عملية زرع الخلايا السرطانية خارج الجسم بيئة ملائمة لنموها لإمكانية المحافظة على ثبات الظروف الفيزيائية والكيميائية التي تؤثر في نمو الخلايا ، كذلك يمكن تهيئة كافة العناصر الغذائية التي يتوقف عليها نجاح أو فشل نمو الخلايا خارج الجسم فالأوساط الزرعية تحوي الكثير من عوامل النمو مثل الأحماض الامينية والأحماض الدهنية والأيونات والفيتامينات ، كذلك تحوي محاليل منظمة تحول دون تغير الأس الهيدروجيني للوسط الزرعي مثل دارئ هبس Hepes buffer وبيكربونات الصوديوم Sodium bicarbonate (Darling and Morgan, 1994) .

تعدّ خطوط الخلايا السرطانية Tumor cell lines ذات أهمية كبيرة في زيادة وتعزيز فهم الطبيعة الحيوية للخلايا السرطانية (Nayak and Dillman, 1991) ، إذ إن خطوط الخلايا السرطانية توفر خلايا ذات أصول موحّدة Uniform ومصدر لكميات كافية من خلايا سرطانية ذات مجموع خلوي نقي Pure cell population غير ممزوجة مع أورمات ليفية Fibroblast أو خلايا طلائية Epithelial cells وخالية من التلوث البكتيري (Tom *et al*., 1976) . وعليه أعدّت هذه الخطوط وسيلة مفيدة في الأغراض التجريبية لاسيما في الإختبارات التي تتم في الزجاج *in vitro* فهي أسرع عملاً وأقل كلفةً وأسرع نتائجاً (Freshney, 2001) .

تستعمل خطوط الخلايا السرطانية في الدراسات والتحليلات الوراثية لبيان أهمية التباين الوراثي الذي يحدث للخلايا وعلاقته بنشوء وتطور الأورام ، وذلك من خلال دراسة التغايرات الكروموسومية للخلايا وتطور النسائل فيها (Yaseen, 1990 ; Yaseen, 1999). كذلك تستعمل خطوط الخلايا

السرطانية في تقييم العناصر العلاجية المختلفة في تجارب الأدوية السامة خلوياً Cytotoxic drugs وذلك بتعريضها لمواد معينة لإختبار سميّتها على الخلايا السرطانية لقياس فعاليتها على النمو الخلوي (Wilson, 2000) .

إن دراسة التأثير السام للأدوية على الخلايا السرطانية في الزجاج تسمح بالسيطرة على المحيط الفسلجي والكيميائي الفسلجي ، وتعطي بيانات واضحة ومصدراً كافياً للعينة المُختبرة حين إستعمال خطوط الخلايا المتمايزة ، فضلاً عن السيطرة على تركيز الدواء ومدة التعرض Duration of exposure بصورة أفضل من دراستها داخل الكائن الحي *in vivo* حتى مع استعمال المركبات غير المستقرة Unstable compounds أو المتغيرة التأيض Metabolically labile (Freshney ,2001) .

أما في العراق فقد جرت محاولات عديدة لإنتاج خط للخلايا السرطانية حيث تمكن Abdul-Majeed, (2000) من الحصول على خط خلايا البلازما السرطانية Plasmacytoma (SU.99) من الفئران ونجح في جعلها تتكيف وتنمو في الوسط الزرعي في الزجاج *in vitro* لأكثر من 60 تمريرة .

وتمكن الشمري ، (2003) من إستحداث خط سرطاني جديد معزول من الفئران البيض نوع Balb/c المصابة بسرطان الغدد اللبنية التلقائيSpontaneous mammary adenocarcinoma .

2-1-8 الطب المكمل أو البديل Alternative or Complementary medicine

كان للنباتات ومنذ قديم الزمان ومن خلال الطب الشعبي ، الدور الأساس والفعّال في الوقاية والعلاج من الكثير من الأمراض التي أبتلى بها الإنسان وقد تجلى ذلك وبشكل واضح في الحضارات البابلية والآشورية والفرعونية والصينية ، وإذا كانت النباتات ولازالت بنوعيها فواكه وخُضر المصدر المهم لغذاء الإنسان فإن فائدتها من الناحية الطبية تمثل في الوقاية من الكثير من الأمراض وزيادة مناعة الجسم كذلك حماية المادة الوراثية الخلوية من خطر الطفرة الوراثية التي قد تؤدي إلى حدوث السرطان (الشحات،1986) .

وأخذت المنتجات النباتية تلعب دوراً أساسياً في الطب عندما وفرت العديد من الأدوية الفعالة للسرطان والمستعملة حالياً مثل teniposide و paclitaxel وvinblastine (Alexandrova *et al.*,2000) .

وبشكل عام فإن المستخلصات النباتية ما هي إلا خليط معقد من مركبات مختلفة ذات تأثير متضاد Antagonistic أو تأثير تآزري Synergistic (Nakamura and Yomamota,1982) .

وقد أشارت العديد من الدراسات إلى أن دور تلك المستخلصات يختلف بإختلاف المواد الفعالة التي تحويها وتركيزها ووقت وطريقة إعطاءها لذلك فهي تقوم بمنع المادة المطفرة من إلحاق الضرر بالمادة الوراثية الدنا (DNA) بواسطة حمايتها أو عن طريق تبديل أو تغيير نظام التنشيط الأيضي لها وبذلك تعمل بوصفها مثبطات مباشرة Desmutagen أو عن طريق تنشيط أنظمة الإصلاح في الخلية وبذلك تعمل عمل المضادات الحيوية Bioantimutagen (Bronzetti,1997) . هذا وقد تناولت الأبحاث الكثير من تلك النباتات ومنها الدور الذي يلعبه الشاي الأخضر Green Tea في تثبيط تأثير المطفر B[a]P على الفأر الأبيض (Junshi,1992) .

لقد أكدت الدراسات الوبائية Epidemiological studies أن هنالك علاقة عكسية بين إستهلاك الثوم *Allium sativum* ومعدل الوفيات بسبب سرطان المعدة في المجتمع الصيني ، إضافة إلى قدرة بعض مركبات الثوم في تثبيط فعالية العديد من المواد الكيمياوية المسرطنة Chemical carcinogens خلال أطوار التحفيز Promotion أو البدأ Initiation وكذلك دوره المباشر وغير المباشر في تنشيط المناعة ضد الورم (Lau *et al.*,1990) ، كذلك أثبت الباحث IP *et al.*, (1996) قدرة الثوم في إخماد الورم السرطاني للثدي وتأثيره الواقي خلال طور النشوء لهذا المرض . وقد يعود السبب إلى إحتواء الثوم على فيتامين C الذي يظهر سمّية خلوية عند إستعماله بتراكيز عالية (Morgan *et al.*,1976) . كما أشار (Ishikawa *et al.*, 1996) الى أن الفعل الوقائي لمستخلصات الثوم يعود الى المحتوى العالي من عنصر السلينيوم الذي يمتلك فعالية حماية ضد المسرطنات في الحيوانات اللبونة .

وفي دراسة على مستخلص الكركم Curcuma وجد أنه له تأثير مثبط على نمو أورام القولون والمستقيم في الجرذان (Ricky *et al.*,2001) . حيث ذكر (Choi *et al.*,2005) إن المركب الفعال في الكركم هو zanthorrlizol المضاد لإنبثاث Antimetastation خلايا سرطان الرئة المنبث في الحيوانات المختبرية .

من جانب آخر أخذت مستخلصات حبة البركة *Nigella sativa* أهمية كبيرة في فعاليتها المضادة للسرطان إذ وجد (Salomi *et al*.,1991) أن مستخلص الحبة السوداء يحوي على بعض الأحماض الدهنية التي لها فعالية مضادة لنمو السرطان من خلال تأثيره على الدنا (DNA) الخلية السرطانية ، وكذلك وجد توقف نمو سرطان إيرلخ Erlich tumor في الفئران المعالجة بالمستخلص . ووجد آخرون أن العجينة الخام والمستخلص الزيتي لبذور الحبة السوداء حاوية على بعض المركبات التي لها تأثير سمي على الخلايا السرطانية البشرية (Worthen *et al*.,1998) . كما لاحظ أبو العلا (Aboul-Ela,2002) إنخفاض معدلات تكرار الزيغ الكروموسومي Chromosomal aberration في الفئران المصابة تجريبياً بديدان المنشقات Schistosoma بعد معاملتها بالثايموكويتون والمستخلص الكحولي لبذور حبة البركة إذ وفرت هذه المعاملة حماية للخلايا المعزولة من نقي العظم والطحال .

كما كشفت إحدى الدراسات التي قام بها (Liu *et al*.,2000)عن أنّ مستخلص الميرامية *Salvia miltiorrhiza* له تأثير مثبط قوي في الخلايا السرطانية Hep-G2 cell line فضلاً عن تأثيره السمي Cytotoxic effect وتحفيزه للموت المبرمج للخلية السرطانية وهي نقطة رئيسة في علاج السرطان علاجاً مباشراً ، كما أثبت (Ibrahim,(2005 إن للمستخلصات المائية والكحولية لنبات الميرامية تأثيراً مثبطاً في نمو خطوط الخلايا السرطانية ومنها سرطان الحنجرة البشري Hep-2 و السرطان الغدة اللبنية للفأري AMN−3 وسرطان العضلات المخططة Rhabdomyosarcoma .

ولوحظ أحتواء العنب *Vitis vinifera* والنبيذ الأحمر على الفينولات المتعددة Polyphenolic مثل Flavonoids و Anthocyanine و Resverato وهو من المواد الفعالة ضد خط MCF-7 لسرطان الثدي البشري مسبباً موت الخلايا المبرمج (Hakimuddin *et al*.,2004) .

كذلك أجريت عدة دراسات أثبتت فعالية المستخلص الخام لنبات الدفلة *Nerium oleander* ضد عدة أنواع من الخطوط السرطانية النامية في المزارع النسيجية ، إذ بينت هذه الدراسات فعالية مستخلصات أوراق نبات الدفلة ضد خطي الخلايا السرطانية Hep-2 و AMN-3 (الشيباني،2006) ، وكذلك ضد خطين من خطوط سرطان البروستات في الإنسان من خلال إيقاف انقسام الخلايا عند الطور G2/ M لخطوط البروستات البشري PC-3M عند إستعمالها بتراكيز واطئة مما أدى إلى موت الخلايا السرطانية (Pathake *et al* .,2000) .

كما وجد أن مركب Moscatilin المعزول من سيقان زهور الاوركيد *Dendrobrium ioddigessii* يثبط عدة أنواع من خلايا سرطان المعدة والرئة والمشيمة وذلك لتثبيطه دورة الخلية عند الطور G2 (Ho and Chen,2003) .

1-8-1-2 منتجات الأيض الثانوي Secondary metabolites :

إن الاهتمام بمركبات الأيض الثانوي بوصفها علاجاً للسرطان ، يأتي من امتلاك تلك المركبات خصائص علاجية تتباين في تأثيرها في الخلايا السرطانية ، إذ يكون لهذه المركبات فعالية تثبيطية تؤدي بالنهاية إما إلى قتل الخلية الورمية أو إيقاف نموها (الحدّ من نشاطها الورمي) (Cassileth, 1999) .

إن مركبات الأيض الثانوي هي مركبات كيميائية مختلفة في درجات التعقيد ، توجد في الأعشاب والنباتات نتيجة الفعاليات الايضية للخلية، إذ تعد مركبات غير أساسية لا تدخل في بناء وتكاثر ونمو الخلية النباتية ، فضلاً عن إنها لا تتأثر بإمكانية استفادة النبات منها ، فهناك الآلاف من القلويدات والكلايكوسيدات والسكريات والأصباغ والتانينات والزيوت الطيارة لا يعرف دورها في حياة النبات (Donald ., 1981) ، قد تكونت في عملية التأيض ويمكن التخلص منها عندما تصل النبتة إلى أعلى درجة من درجات التكيف ، لذلك فهي كأنها مواد تالفة اختزنتها النبتة التي أنتجتها (الشماع،1989; Wink and Witte,1984) .

إن هناك عدة افتراضات لأهمية هذه المركبات منها ، أنها مواد سامة لحماية النبات ضد الحشرات والفايروسات والبكتريا والفطريات ، وأنها مركبات مهمة لتنظيم نمو النبتة ، فضلاً عن أنها مواد خازنة للنتروجين أو الكاربون أو عناصر أخرى مهمة لتزويد النبتة عند الحاجة لأي عنصر من هذه العناصر (Wink,1987 ; Ganapathi and Kargi,1990) .

تصنف مركبات الأيض الثانوي عادة وفق تركيبها الكيميائي إلى عدة مجاميع مهمة منها

1- القلويدات Alkaloids مثل قلويد Vasicine في نبات *Adhatoda vasica* وقلويد Vinblastine في نبات *Catharanthus roseus* .

2- الكلايكوسيدات Glycosides مثل كلايكوسيد Digitoxine في نبات *Digitalis purpurea* ، وكلايكوسيد Aloedine في نبات *Aloe vera* .

3- المواد الدباغية Tannins مثل مركب Tannic acid في نبات *Ouercus infectoria* ومركب Glucotannine في نبات *Hmammelis virginiana* .

4- الراتنجات والصموغ (Resins) مثل مركب Coldcynthine في نبات *Citrullus colocynthis* ، ومركبCannabinol في نبات *Cannabia sativa* .

5- الزيوت الطيّارة Volatile oils مثل زيت Eucalyptol الموجود في أنواع جنس نبات .*Eucalyptus spp* ، وزيت Menthol في نبات *Mentha piperta* (قطب ، 1981) .

1-1-8-1-2 القلويدات Alkaloids :

وهي واحدة من منتجات الأيض الثانوي ، ويمكن استخلاصها من النباتات ، إذ تشمل المركبات العضوية القاعدية كافة التي تحتوي على ذرة نيتروجين بوصفها جزءاً من نظامها الحلقي (Robinson,1969 ; Adel and Graneit,1982) .

أكتشفت القلويدات عندما فصلَ العلماء الألمان قلويد المورفين Morphine من نبات الخشخاش (الشماع، 1989) ، ومنذ ذلك الحين توالت عمليات فصل قلويدات كثيرة أنقذت حياة ملايين الناس من الأمراض المستعصية ، فقد عزل وإستخلص الصيادلة والكيماويين ما يقرب 2000 قلويد تعود لأجناس متعددة من العوائل النباتية المختلفة ، وهي تتواجد بكثرة في النباتات ذوات الفلقتين Dicotyledons (Harborne,1973) .

توجد القلويدات في النباتات أما بحالة حرة أو بشكل أملاح لبعض الأحماض العضوية ، كحامض التارتريك Tartaric acid وحامض الليمون Citric acid وحامض التانيك Tannic acid ، إذ توجد في أجزاء النبات جميعها أو تكون مركزة في البعض منها مثل الأوراق أو الأزهار أو الجذور (الشحات ،1986) .

تتكون القلويدات كيميائيا من عناصر الكربون و الهيدروجين والنتروجين والأوكسجين ، لكن بعضها لا يحتوي على الأوكسجين ، لذلك تكون هذه النوعية بشكل سائل مثل قلويد النيكوتين Nicotine ، بينما أنواع القلويدات الاخرى صلبة متبلورة ، وعادة ما تكون القلويدات عديمة اللون والرائحة و مرة الطعم Bitter وقليل منها ملون مثل Berberine ذو اللون الأصفر و قلويد Betanine ذو اللون الأحمر .

تذوب القلويدات الحرة في المذيبات العضوية ، لكنها لا تذوب في الماء على العكس من أملاحها العضوية التي تذوب في الماء ولا تذوب في المذيبات العضوية ، وعندما تكون القلويدات بشكل أملاح

فأن محاليلها حامضية ، في حين تكون قاعدية عند وجودها بشكل حر ، من جانب آخر فان القلويدات تؤثر على الضوء المستقطب وتجعله ينحرف يميناً ويساراً (Pelletier,1970) .

صنفت القلويدات إلى مجموعتين أساسيتين ، الأولى تكون متجانسة الحلقة والثانية غير متجانسة الحلقة ، وحسب ما أشار إليه (الشحات ، 1986 ; 1988, .Tyler *et al*) وكالآتي :

أ–القلويدات متجانسة الحلقة Non- heterocyclic alkaloids : تشمل مجموعة فنيل ألكيل أمين ومثاله مركب Ephidrine الموجود في نبات العادر Ephidra .

ب–القلويدات غير متجانسة الحلقة Heterocyclic alkaloids وتشمل المجاميع التسعة الآتية:

1– مجموعة Pyridine-Piperidine مثل قلويد Nicotine في أوراق التبغ *Nicotiana tabacum* .

2– مجموعة Tropan مثل قلويد Hyoscine في نبات الداتورا *Datura arburea* .

3– مجموعة Quinoline مثل قلويد Quinine في قشور نبات ألكينا *Cinchona officinalis* .

4– مجموعة Iso- Quinoline مثل قلويد Papaverine في نبات الخشخاش *Papaver somniferum* .

5– مجموعة Indole مثل قلويد Ergoetrine في الفطر *Claviceps paurpur* .

6– مجموعة Imidazole مثل قلويد Pilocarpine في نبات اليوكالبتوس Eucalyptus .

7– مجموعة Purine مثل قلويد Caf ،feine في نبات الشاي *Camellia sinensis* والبن *Coffea arabica* .

8– مجموعة Carboline مثل قلويد Reserpine في جذور الرولينا Rollinia .

9– مجموعة Steroidal alkaloids مثل قلويد Solasodine في نبات عنيب الذيب . *Solanum nigrum*

تعد القلويدات الموجودة في النباتات من أهم المركبات المستعملة في العلاج بوصفها دواءاً شائع الاستعمال ، بالرغم من وجود البعض منها في الفطريات ، فضلا عن إمكانية تحضيرها صناعياً (الدرويش ،1983) . تمتلك معظم القلويدات تأثيرات فسيولوجية في الكائن الحي ، وبالرغم من وجودها في النباتات بكميات ضئيلة (الشماع ، 1989) .

2-1-8-1-1-1 العائلات النباتية المحتوية على القلويدات :

من أهم العوائل التي تحتوي على القلويدات هي العائلة الخشخاشية Papaveraceae والعائلة الباذنجانية Solanaceae والعائلة الزنبقية Liliaceae والعائلة السنفية Acanthaceae والعائلة

الدفلية Apocanaceae (البالاني ,2003) ، وتعتبر العائلة الدفلية من العائلات المهمة والواسعة الأنتشار في العالم إذ ذكر ستيفن (Stephen ,2000) وجود 315 جنسا و 2000 نوع في العالم ، كما ذكر الموسوي، (1987) أنها تضم 180 جنساً و 1500 نوعاً في العالم و تضمنت أربعة أجناس برية وثلاثة أنواع مستزرعة في العراق . أما الكاتب، (1988) فقد أشار الى وجود 300 جنس و 1300 نوع في العالم , وتمثلت بأربعة عشر نوعاً برياً وسبعة أنواع مستزرعة في العراق .

لقد إحتلت العائلة الدفلية موقعاًً متميزاً في دساتير الصيدلة وتصنيع الأدوية والعقاقير الطبية والتي استعملت في علاج الكثير من الأمراض القلبية والباطنية والجلدية وأمراض السرطان على الرغم من كونها سامة جداً للإنسان والحيوان إذا ما أكلت ثمارها أو تراكيبها الخضرية (الموسوي ، 1987) .

2-1-9 نبات عين البزون *Catharanthus roseus(Vinca rosea)* :

2-1-9-1 وصف النبات Plant description :

عين البزون نبات شبه شجيري معمر، يمتاز بوجود المادة اللبنية في أنسجته ، دائم الخضرة يتراوح حجمه من عشب صغير إلى شجيرة صغيرة , حيث يبلغ طولها من (40–80) سم (الشماع ,1989) , ويتصف بسيقان ملكننة عند القاعدة ، وأوراق بسيطة متقابلة مع نصل بيضوي كامل مدبب من الطرف ، أما أزهاره فهي مفردة رائعة الجمال ذات شكل عيني ولذلك سمي النبات بعين البزون Little Bright Eye ، وألوان الازهار مختلفة منها الوردي والبنفسجي الفاتح والأبيض ، والثمرة جرابية تشبه القرنة تحتوي على (12-20) بذرة ذات غلاف أسود سميك، وعادة ما يزرع النبات من أجل الزينة (Franswoth, 1961; Bruneton,1995) .

أما فيما يخص صفات نبات عين البزون المنتشر في العراق فانه لا يختلف عن غيره ، فقد درس الزركاني ، (2003) الصفات المظهرية والتشريحية وحبوب اللقاح لذلك النبات ، ووجد أنه شبه شجيري معمر دائم الخضرة ، ذو ساق مفردة صاعدة منتصبة حاملة لشعيرات دقيقة ، أما الأوراق فهي

ذات شكل إهليجي – بيضوي مقلوب يستند على قاعدة حادة (وتدية ممتدة) ذو قمة مهمازية (دائرية – حادة) ، وبخصوص الأزهار فإنها خنثية Hermophrodite متناظرة شعاعياً Actinomorphic ، تتراوح أعدادها مابين (2–7) زهرة ذات موقع طرفي إبطي ، في حين تتميز الثمار بأنها حويصلية ملساء تحتوي على غرفة واحدة ولونها حشيشي فاتح ، والبذور سوداء اللون ذات نتوءات سطحية مرصوفة طولياً ، أما فترة الإزهار فتمتد من شهر حزيران إلى تشرين الثاني .

صورة (1) تمثل نبات عين البزون نامياً بشكل طبيعي في جامعة كربلاء

2-9-1-2 تصنيف النبات Classification of the plant

لقد تم تصنيف نبات عين البزون من قبل Franswoth,(1961) على النحو الآتي :

Family	**Apocynaceae**	**العائلة**
Sub-family	**Plumerioideae**	**تحت العائلة**
Tribe	**Alstonieae**	**الرتبة**
Sub-tribe	**Catharanthinae**	**العشيرة**
Genus	**Catharanthus**	**الجنس**

ينتمي جنس الونكا أو الفنكا (عين البزون) إلى العائلة الدفلية Apocynaceae ، اذ يعد من أهم أجناسها ، تعرف هذه العائلة بتسميات عديدة منها قاتل الكلب Dogebane ، وقد يطلق عليها عائلة أم الحليب Milk weed لاحتواء بعض أجناسها على الحليب النباتي Milky juice (Holland, 2000) .

تعرف الونكا بالنبتة المفترشة ، ذات الأزهار الزرقاء Madagascar periwinkle (Russel ,1997) ، يشير الباحث كونمون (Kongmun , 2000) إلى انه عندما يذكر اسم الجنس *Vinca* لا يقصد به الجنس *CathaSranthus* دائماً ، إذ يعد الأخير جنساً مستقلاً عنه بعد أن كان أحد أنواع الجنس *Vinca* وهو النوع *Vinca rosea* الذي تغيرت تسميته فأصبح يسمى *Catharanthus roseus* .

2-1-9-3 انتشار النبات Distribuyion of the plant :

أشار (Burkill ,1935) إلى إن نبات عين البزون *Vinca rosea* قد إنتشر من موطنه الأصلي وهي جمهورية مدغشقر إلى مختلف بقاع العالم ، وأصبح يزرع بصورة طبيعية ، كما ذكر (Roxburgh , 1892) أنه سمي Hindustani في مناطق الهند , والتي يقصد بها الأزهار الأجنبية أو الدخيلة Foreign rose ، في حين أشار Townsend and Guest , (1980) إلى إن تسميته مشتقه من الكلمة Katharos (التي تعني النقي Pure) وAnthos (التي تعني الأزهار) ، فتشير بمجموعها إلى أناقة Neatness أو جمالBeauty الأزهار ، بينما ينتشر جنس *Vinca minor* في شمال أسبانيا وجنوب فرنسا ووسط وجنوب أوربا (PDR for Herbal Medicine, 1998) .

2-1-9-4 المركبات الفعالة في النبات The effective compounds in the plant

يحتوي النبات على الكثير من القلويدات ,إذ يتوقف نوعها وكميّتها على نوع Species النبات نفسه ، ومنها Vinblastine و Vincristine و Vinleurosine و Vinrosidine الموجودة في نبات عين البزون ، وتشكل هذه القلويدات حوالي (0.1 -0.2) % في الأجزاء الهوائية للنبات ، وتكون بهيئة مزيج معقد جداً في 95 % منها ، وأشارت آخر النتائج التي توصل إليها الباحثون إلى إن *C. roseus* يعدّ خزيناً لأكثر من 75 قلويداً (Mukherjee *et al*. ,2001) وعلى العموم فان جميعها من مشتقات الاندول Indole او الدايهايدرواندول Dihydroindole ، وقسماً منها يوجد في

نباتات أخرى من العائلة الدفلية مثل Ajmalicineو Tetrahydroalstonine و Serpentine و Lochnerine (الشماع ، 1989؛ Bruneton ,1995) .

تشكل المركبات القلويدية حوالي 130 مركباً من مركبات الإندول التربينية , التي تشمل كلاً من Vincristine و Vinblastine (Van- DerHeijden *et al*., 2004) .

تتكون القلويدات المهمة صيدلانياً من إزدواج اثنين من الوحدات المفردة التي يطلق عليها بالقلويدات المزدوجة Binary , وقد تم عزل حوالي 20 نوعاً من القلويدات الثنائية من أنواع جنس عين البزون المختلفة ,لكن نسب تواجدها قليلة جداً إذ لا يمكن الحصول على 3غم من قلويد Vincristine لكل طن من النبات المجفف , في حين يكون قلويد Vinblastine أكثر وفرة منه (Bruneton ,1995) .

أن محتوى جنس *C. roseus* من قلويدا Vinblastineو Vincristine قليل جداً ، إذ لا يتعدى 0.005 % (Barthe *et al*. ,2002) ، أما الجنس *V. minor* (Periwinkle) فيحتوي على قلويدات الإندول بنسبة 0.15–1.4% (PDR for Herbal Medicine, 1998) .

فيما أثبت Vazquez-Flota وزملاؤه (2004) أن بذور نبات *C. roseus* تحتوي على القلويدات أحاديه التربين ، والتي تشمل Tabersonine وCatharanthine وAjamalicine ، وتختلف نسبتها استجابة للظروف المحيطة بالنبات , كما يحتوى الجزء الذائب في الميثانول من المستخلص المائي لنبات *C. roseus* والمزروع في إندونيسيا على نوعين من التربينات الثلاثية هما Oleanolic acid و Ursolic Acid وثلاثة قلويدات هي Vindolin و Ajmalicine و Serpentine (Usia *et al*.,2005) ، كما يحتوي على المركبات الفينولية Phenolic Compounds التي تشمل كلا من Kaempferol و Mauritianin و Quercetin و Chlorogenic acid (Nishibe,1997; Zheng and Wang,2001) .

وعند أجراء تحليل مكونات العناصر لضربين من نبات *C. roseus* ولأجزاء النبات كافة من الضربين وهما ذو الأزهار ألورديه Pink flowers والأزهار البيضاء White flowers فكانت النتائج هي احتواءهما على الصوديوم Na , الكالسيوم Ca , والباريوم Ba , وألالمنيوم Al , والرصاص Pb , والكادميوم Cd , والكروم Cr , والبوتاسيوم K , والنيكل Ni , والمنغنيز Mn , والكوبلت Co , والنحاس Cu , والحديد Fe , الخارصين Zn , والمغنيسيوم Mg ، إذ بينت نتائج التحليل إن مستوى العناصر الاساسية مثل الزنك Zn , والحديد Fe , والمنغنيز Mn , والنحاس Cu تكون بكميات عالية , بينما كان مستوى عنصر الزنك Zn في الأزهار عاليا مقارنه ببقية الأجزاء

الأخرى , كما لوحظ أن مستوى الحديد Fe كان مرتفعاً في ضرب الأزهار الوردي لنبات *C. roseus* والعكس بالنسبة لعنصر الألمنيوم Al (Sahito *et al.* ,2001) .

وفي دراسة قام بها Nicoletti وآخرون عام (1998) وجدوا أن هناك سبعه أنواع من القلويدات الإندولية في الأجزاء الهوائية لنبات *Vinca saradoa* المستوطن في سردينا في ايطاليا ، بينما يحتوي جنس *Vinca minor* على قلويد Vincamine (Nishibe ,1997) .

2-1-9-5 الاستعمالات الطبية للنبات *C. roseus* Medical uses for

يستعمل مستخلص نبات عين البزون في تخفيض الضغط ، وضد الانقباضات ، فضلاً عن تأثيره في القلب والتنفس ، إذ تستعمل بعض القلويدات الموجودة في الجذور والقلف والبذور في معالجة امراض القلب بوصفها بديلاً عن نبات Digitalis (الزركاني ,2003) .

كما ذكر كل من Neogi and Bhatia(1956) استعمال مستخلص هذا النبات بوصفه طارداً لديدان الامعاء Vermifuges .

إن من أهم تأثيراته الطبية التي اكتشفت هو العمل ضد امراض السرطان , Montbriand) (2004 إذ يستعمل قلويد Vincristine لمعالجة ابيضاض الدم الحاد عند الأطفال Acute lymphoblastic leukemia (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 1988; Kavallaris ,2001) ويعد النبات مدرراً جيداً Diuretic ومسهلاً قوياً Laxative , فضلاً عن استعماله في علاج أمراض المفاصل Arthromatosis ، ويعد ملطفاً ومسكنّاً لبعض الآلام (AlRawi ,1964) . يمتلك النبات فعالية مضادة لمرض السكر Antidiabetic (Nishibe ,1997) , فقد أشار (Ghosh and Gupta ,1980) إلى إن عصير أوراق النبات يمكن أن يستعمل في علاج مرض السكر و يمكن أن يكون تأثيره أفضل من الأنسولين ، ووجد (Kar *et* ; Singh *et al.* , 2001 *al.* ,2003) أن المستخلص الكحولي لأوراق نبات *C. roseus* يؤدي إلى تخفيض مستوى سكر الدم ، وانعدام السكر في البول في الجرذان ألمصابه بالسكري عند تجريعها المستخلص بوساطة الفم بتركيز 250 ملغم/كغم من وزن الحيوان ولمدة أسبوع وبجرعتين يومياً .

وتوصل (Nammi *et al.* ,2003) إلى النتائج نفسها في دراسة أجراها على الأرانب , مما يدعم الاستعمال الطبي التقليدي لنبات عين البزون في الطب الهندي واليوناني القديم .

2-1-9-6 آلية عمل قلويدات عين البزون

Mechanism of action of alkaloids of *C. roseus*

توجد العديد من الأدوية الفعالة المضادة للسرطان والمشتقة من نبات عين البزون *C. roseus* منها Vincristine و Vinblastine (Tyler *et al.*,1988) ، فضلاً عن المشتقات شبه المصنعة وهي Vinorelbine وVinflunine ، وتعمل هذه المشتقات على تثبيط الانقسام الخيطي في الخلايا بوساطة منع بلمرة بروتين تيوبيولين Tubuline المسؤول عن تكوين خيوط المغزل ، وبالتالي فأنها تسبب إيقاف الانقسام الخيطي وتبقى الخلايا في الطور الإستوائي Metaphase ، لكن يكون التأثير قاتلاً في طور البناء Synthesis phase (Okouneva *et al.*,1991) .

كما يلعب تجمع النبيبات الدقيقة Microtubulesفي الخلايا دوراً في قفل الإشارة العصبية لتلك الخلايا وهو سبب التأثيرات السمية العصبية لهذه القلويدات ، ومن جانب آخر تعمل هذه المركبات على تثبيط بناء بروتينات الأحماض النووية خارج الجسم الحي *In vitro* (Medinger *et al.* ,2003) .

لقد بيّنت النتائج التي توصل إليها Jordan وزملاؤه (1991) أن التأثير المثبط لإنقسام خلايا HeLa عند التراكيز ألواطئة من قلويدات عين البزون ناتج عن تثبيط عمل خيوط المغزل ، كما أشارت النتائج إلى أن قلويدات عين البزون تؤثر في آليات إضافة وفقد التيوبيولين Tubulin في أطراف النبيبات الدقيقة ، لكنها لا تعمل على تفكيك النبيبات الدقيقة .

كما أشار Lobert وزملاؤه (2000) إن سمية قلويدات عين البزون ضد خط خلايا سرطان الدم Leukemia L1210 مرتبطة بدرجه تأثيرها على بروتين Tubulin T وترتيبه المغزلي .

وقد قام Parekh and Simpkins, (1996) بدراسة التأثير القاتل لكل من السموم ألمثبطة لخيوط المغزل وهى قلويدات عين البزون و Anthracyclin وAdriamycin في خطوط الخلايا اللمفاوية ألمقاومه والحساسة لـ Cisplatin المأخوذ من الجرذ وفي خطوط خلايا سرطان المبيض البشري , فقد وجد أن قلويدات عين البزون Vincristine و Vinblastine أكثر فعالية من كل من Taxol و Adriamycin و Colchicine و Colcemid و Cisplatin ، مما يرشح استعمال قلويدات عين البزون بوصفه علاجاً فعّالاً للخلايا المقاومة للدواء الكيمياوي السسبلاتين Cisplatin .

درس Ngan وزملاؤه (2001) آليات تثبيط الانقسام الخيطي بوساطة قلويد Vinorelbine وكذلك المركب المشتق منه وهو Vinflunine , إذ يمتلك هذا القلويد فعّالية عالية في التثبيط مقارنة بالفنبلاستين Vinblastine . كذلك أوضحت النتائج التي توصل إليها Pourroy وزملاؤه (2004) أن التراكيز الواطئة من Vinflunine لا تسبب إيقاف الخلايا في مرحلة G_2/M بل تسبب تثبيط

النبيبات الدقيقة وما يتبعها من موت مبرمج للخلايا . كما اثبت (Kruczynski and Hill,2001) قلة سميتهُ تجاه الخلايا العصبية وتأثيره التآزري العالي عند استعماله مع Cisplatin أو Mitomycin أو Doxorubicin أو 5–Flurouracil مقارنةً ببقية قلويدات عين البزون . وأظهرت التجارب امتلاك Vinflunine فعالية عالية ضد عدد كبير من السرطانات داخل الجسم الحي .

وتوصل Mareel وزملاؤه (1982) إلى أن قلويدات عين البزون يمكن أن تؤثر في قدرة خلايا Fibrosarcoma cells على الهجرة والغزو migration and invasion في المزارع النسيجية ، فضلاً عن تأثيرها في نمو تلك الخلايا ، في حين يعمل ألـ 5–Flurouracile في تثبيط نمو الخلايا دون منعها من الغزو .

2-1-9-7 الاستعمالات الطبية لقلويدات الفنكا Medical uses of vinca alkaloids

2-1-9-1-7 الاستعمالات الطبية لقلويد الفنبلاستين Vinblastine

Vinblastine مركب من مركبات الإندول التربينيه Terpenoid indole alkaloids (Van Der Heijden *et al.* ,2004) ، وقد إستخدم منذ أربعين عاماً لعلاج بعض حالات السرطان ، ومنها داءهوجكن Hodgkin's lymphomas واللاهوجكن Non-Hodgkin's وسرطان كابوسي Kaposi's sarcoma وسرطان الثدي والخصى Carcinoma of breast and testes . (Mukherjee *et al*.,2001)

2-1-9-2-7 الإستعمالات الطبية لقلويد الفنكرستين Vincristine

يستعمل لعلاج داء هوجكن Hodgkin's lymphomas واللاهوجكن Non- Hodgkin's lymphomas ، وحالات ابيّضاض الدم الحاد عند الأطفال Acute lymphocytic leukemia (ALL) وورمٍ ويلمز Wilm's tumor وسرطان العضلات المخططة Rhabdomyosarcomas وسرطان كابوسي Kaposi's Sarcoma وسرطان الثدي Breast Cancer وسرطان الدماغ Cerebroma وسرطان المثانةBladder Cancer ويعد مركب الفنكرستين Vincristine غير ضار لنقي العظم فهو مثال للعلاج الكيماوي المتكامل (Vidyasgar *et al*., 1999; Sweetman and Morpharms, 2002).

2-1-9-7-3 الإستعمالات الطبية لقلويد الفنوريلبين Vinorelbine

مركب شبه صناعي جديد من قلويدات عين البزون التي تستعمل بوصفها علاجاً مشتركاً أو منفرداً إذ أعطى فعالية واضحة ضد الأورام (Bernabei *et al.*,1999) ، وهو عقارّ موقف لإنقسام الخلايا ، إذ يختلف عن الفنكرستين والفنبلاستين بانخفاض سميته ألعصبيه مما يساعد على إستعمال جرعات مرتفعة للوصول إلى تأثير مضاد للأورام ذو فعالية عالية ، وهو يستعمل في علاج سرطان الثدي Breast cancer والسرطان الرئوي للخلايا غير الصغيرة Non-Small Carcinoma of lung (Lehne ,2001) .

2-1-9-8 التأثيرات الجانبية لقلويدات الفنكا The side effect of vinca alkaloids

إن أمراضية الأعصاب المحيطة هي المحدد الرئيسي لسمية الجرعة ، إذ يضر Vincristine الأعصاب عن طريق إتلاف النبيبات العصبية، وان هذا الضرر بالنبيبات العصبية ينتج عن ارتباطه بالتيوبيولين Tubulin وهو نفس البروتين الذي يتواجد بالنبيبات الدقيقة Microtubules ، أن كل المرضى تقريباً يظهرون أعراضاً لها علاقة بضرر الجهاز الحسي الحركي العصبي ، فمثلاً انخفاض الاستجابة والضعف والارتجاف وفقدان الإحساس ، أما أعراض الضرر التي تلحق بالجهاز العصبي الذاتي مثل إمساك وفرط التبول تكون أقل شيوعاً وتحدث في (30-50)% من الأفراد الذين يتناولون هذا العقار(Lehne, 2001) ، ولأن Vincristine لا يدخل مباشرةً إلى الجهاز العصبي المركزي ، لذا تكون الأضرار بالدماغ قليلة وعلى خلاف جميع العقاقير المضادة للسرطان فإن Vincristine يسبب سمية قليلة لنخاع العظم وبالتالي يكون هذا العقار مرغوباً بصورة خاصة في العلاج المختلط مع العقاقير الأخرى المضادة للسرطان ، بالإضافة إلى انه مادة مهرشة فعالة قوية ويمكن أن تسبب جروح موضعية حادة وتحدث تساقط الشعر في حوالي 20 % من المرضى الذين يتعاطون العقار ، أما الصداع والتقيؤ فيكون نادراً ، أما بالنسبة لقلويد Vinblastine فان المحدد السمّي الرئيسي للجرعة هو تدهور نخاع العظم ، إن السمية العصبية يمكن أن تحصل ولكن بصورة اقل حدة عن تلك الناتجة عن Vincristine ، بالإضافة إلى حدوث التأثيرات الأخرى والتي تشمل الصداع والتقيؤ وسقوط الشعر والتهاب المعدة والأضرار الموضعية ، أما قلويد Vinorelbineفمن الممكن أن يسبب تدهوراً كبيراً في نخاع العظم ، كذلك حصول نقص خلايا الدم العدلة ، كما يحصل التهاب الأعصاب المحيطة

ولكن بدرجة أقل من تلك التي تحصل بالـ Vincristine ، أما بالنسبة للتأثيرات الأخرى فإن جميعها تكون خفيفة إلى معتدلة تشبه في ذلك Vinblastine (Laurence and Bennett ,1992) .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

المواد وطرائق العمل

1-3 المواد

1-1-3 الأجهزة المستخدمة Instruments

اسم الجهاز	الشركة المجهزة	المنشأ
ELISA Multi-Well Plate Reader	Organon teknika	Austria
Centrifuge	Universal 16A	Germany
Water bath	Precisterm	Germany
Cooled incubator	Gallenkamp	U.K
Hot plate with magnetic stirrer	Gallenkamp	England
Oven	Gallenkamp	U.K
Laminar air flow cabinet	Gelaire	U.K
Inverted-phase microscope	Olympus	Japan
Light microscope	Olympus	Japan
Sensitive balance	Precisa	Switzerland
Dessicator	Quickfit	U.K

2-1-3 الزجاجيات وألأدوات المستخدمة

إسم الأداة	الشركة المجهزة	المنشأ
أطباق الزرع النسيجي ذات 96 حفرة مسطحة القعر Microtiter plates with 96-flat bottom well	Flow lab., Irvine	U.K
Glass slides	Gallenkamp	England
قناني بلاستيكية للزرع النسيجي حجم 25سم^2 Plastic bottles for tissue culture, 25cm^2	Falcon	U.S.A
	Millipore	U.S.A
Cryotubes	Nunc	Denmark

3-1-3 الكيمياويات المستخدمة Chemicals

اسم المادة	الشركة المجهزة	المنشأ
	BDH	England
Trypsin	Sigma	USA
Glacial acetic acid	Sigma	USA
	BDH	England
Sulfuric acid	BDH	England
Chromic acid	Sigma	USA
Hydrochloric acid	BDH	England
Lead acetate	Fluka	Switzerland
Crystal violet	Sigma	USA
	BDH	England
Versene	BDH	England
فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينية KH_2PO_4	BDG	England
فوسفات الصوديوم الهيدروجينية Na_2HPO_4	BDH	England
كبريتات النحاس Copper sulfate	Fluka	Switzerland
كحول إيثيلي مطلق Absolute ethanol	BDH	England
Absolute methanol	BDH	England
Chloroform	BDH	England
Potasium chloride	BDH	England
Ferric chloride	BDH	England
Mercuric chloride	BDH	England
Sodium chloride	BDH	England
Colcemide	Serva	Germany

Germany	Serva	Roshail salt
Iraq		Phytohaemagglutinin (PHA)
Iraq		Bovine serum
Iraq		Benzyl penicillin
Iraq		Streptomycin
England	BDH	Bismuth subnitrate
England	Leo	Heparin
Switzerland	Fluka	Potassium hydroxide
England	BDH	Sodium hydroxide
USA	Sigma	الوسط الزرعي RPMI-1640 Rosswell Park Memorial Institute-1640
England	BDH	يوديد البوتاسيوم Potassium iodide

3-1-4 تحضير المحاليل والأوساط الزرعية والصبغات

3-1-4-1 المذيبات المستخدمة في الاستخلاص Solvents used for extraction

. (Double distilled water)

. Ethanol %70

3-1-4-2 المحاليل الخاصة بالزرع النسيجي Stock solutions for tissue culture

.

3-1-4-2-1 المضادات الحيوية Antibiotics

. (−20)

.

3-1-4-2-2 بيكاربونات الصوديوم Sodium bicarbonate

.

3-1-4-2-3 المصل Bovine Serum

.

3-1-4-2-4 الوسط الزرعي (RPMI– 1640) Rosswell Park Memorial Institute

:

.

3-1-4-2-5 محلول دارئ الفوسفات الملحي (PBS) Phosphate buffer Saline (pH 7.2)

.

6-2-4-1-3 التربسين Trypsin

.

7-2-4-1-3 الفرسين Versene

.

8-2-4-1-3 محلول التربسين– فرسين Trypsin - Versene solution

.

3-4-1-3 المحاليل الخاصة بدراسة تأثير المستخلصات الخام في نمو الخطوط الخلوية السرطانية

Stock solutions for study the effect of crude extracts on cancer cell lines

1-3-4-1-3 الوسط الزرعي الخالي من المصل Serum Free Media (SFM)

. Serum Free Media (SFM)

2-3-4-1-3 صبغة البنفسج البلوري Crystal violet

. (Mather and Roberts,1998)

3-1-4-4 المحاليل الخاصة بالدراسة الوراثية الخلوية

Stock solutions for cytogenetic study

: (Yaseen *et al.*, 1998 ; Yaseen, 1990)

3-1-4-4-1 الوسط الزرعي RPMI-1640

.

3-1-4-4-2 البلازما البشرية Human plasma

) .

3-1-4-4-3 مانع تخثر الدم (الهيبارين Heparin)

.

3-1-4-4-4 مادة Phytohaemagglutinin (PHA)

.

3-1-4-4-5 الكولسمايد Colcemid

.

3-1-4-4-6 المحلول واطئ التوتر Hypotonic solution (0.075 M KCl)

.

3-1-4-4-7 المثبت Fixative

) .

3-1-4-4-8 دارئ سورنسن Sorenson's buffer

. and Babu, 1989)

3-1-4-4-9 صبغة كمزا Giemsa stain

.

3-1-5 الخطوط الخلوية Cell Lines

3-1-5-1 الخـط الخلـوي السـرطاني (Hep-2) Human Laryngeal Epidermoid Carcinoma

3-1-5-2 الخط الخلوي السرطاني (AMN-3) Ahmed-Mohammed-Nahi-2003

3-5-1-3 الخط الخلوي الطبيعي لجنين الجرذ Rat Embryo Fibroblast (REF)

. (Subculture)

2-3 طرائق العمل

.

1-2-3 جمع وتصنيف النبات

. 2004/9/4

.

2-2-3 تحضير المستخلصات الخام لنبات عين البزون Preparation of Crude Extracts

1-2-2-3 تحضير المستخلصات المائية الخام للأوراق والأزهار والبذور

.

.

. (Whatman No.1)

.

.

.

2-2-2-3 تحضير المستخلص الخام الكحولي (الاثيلي) لنبات عين البزون

.

3-2-3 الكشف الكيميائي التمهيدي (الإستدلالي) عن المركبات الفعالة في المستخلصات النباتية

1-3-2-3 الكشف عن الدباغيات Tanins :

:

أ- محلول كلوريد الحديديك

. (Harborne,1984)

ب- محلول خلات الرصاص

. (1994

2-3-2-3 الكشف عن التربينات والستيرويدات Terpenes & Steroids :

(Harborne,1984).

3-3-2-3 الكشف عن الراتنجات Resins :

(Harborne,1984).

4-3-2-3 الكشف عن الصابونينات Saponins :

:

أ- كاشف الرغوة

. (Harborne,1984)

ب- محلول كلوريد الزئبقيك

. (Shihata,1951)

5-3-2-3 الكشف عن الفلافونويدات Flavonoids :

(Harborne,1984).

6-3-2-3 الكشف عن القلويدات Alkaloids :

:

أ- كاشف ماير Mayer`s reagent

:

.

.

. (Harborne, 1984)

ب- كاشف دراكندروف Dragendroff`s reagent

:

.

.

. (Antherden,1969)

7-3-2-3 الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides :

:

.

.

.(Harborne,1984)

3-2-3-8 الكشف عن الكومارينات Coumarins :

(Harborne,1984).

3-2-4 دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات عين البزون في نمو الخطوط الخلوية

Study of the effect of crude extracts on cell lines

3-2-4-1 تهيئة الوسط الزرعي وخطوط الخلايا Preparation of medium and cell lines

.

.

.

3-2-4-2 اختبار سُمية المستخلصات الخام للنبات في نمو الخطوط الخلوية السرطانية

Cytotoxicity assay of crude extracts of *V. rosea* on growth cancer cell lines

. Micropipette

.

.

.

النسبة المئوية للتثبيط % = (قراءة السيطرة – قراءة المعاملة لكل تركيز) / قراءة السيطرة × 100

النسبة المئوية لحيوية الخلايا % = (قراءة المعاملة لكل تركيز / قراءة السيطرة) × 100

3-2-5 الإدامة والمحافظة على الخطوط الخلوية Maintenance of cell lines

.

3-2-6 دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات عين البزون في الخلايا اللمفاوية البشرية

3-2-6-1 دراسة تاثيرالمستخلصات الخام للنبات في انقسام الخلايا اللمفاوية البشرية

3-2-6-1-1 سحب الدم Blood Sampling

.

3-2-6-1-2 الزرع Culturing

3-1-6-2-3 الحصاد Harvesting

.

.

.

.

.

.

.

.

4-1-6-2-3 الشرائح الزجاجية Slides preparation

.

5-1-6-2-3 التقطير Dropping

.

.

3-2-6-1-6 التصبيغ Staining

.

3-2-6-2 دراسة استعمال المستخلصات الخام للنبات بوصفه بديلاً للكولسمايد في إيقاف انقسام الخلايا اللمفاوية

.

3-2-6-3 دراسة إستعمال المستخلصات الخام للنبات بوصفها مادة مُشَطِّرة للخلايا اللمفاوية

.

3-2-7 دليل التحول الأرومي Blastogenic Index (BI)

:

$$\text{دليل التحول الأرومي (\%BI)} = \frac{\text{عدد الخلايا الأرومية}}{\text{العدد الكلي للخلايا (1000 خلية)}} \times 100$$

3-2-8 دليل الانقسام الخلوي Mitotic Index (MI)

:

$$\text{دليل الانقسام (\%MI)} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة (1000 خلية)}} \times 100$$

9-2-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

. Microsoft

.)

الفصل الرابع

النتائج

النتائــج

1-4 تحضير المستخلصات الخام لنبات عين البزون

1-1-4 تحضير المستخلصات المائية الخام للأوراق والأزهار والبذور

تم الحصول على المستخلصات المائية الجافة للأجزاء النباتية الثلاثة (أوراق ، أزهار ، بذور) بنسب إستخلاص مبينة في الجدول (4–1) ، وكان مستخلص الأوراق ذا قوام صلب وبلون بني داكن ، أما مستخلص الأزهار فكان لزجاً وبلون أصفر فاتح ، وظهر مستخلص البذور لزجاً وبلون زيتوني داكن .

2-1-4 تحضير المستخلصات الخام الكحولية (الاثيلية)

من خلال تحضير المستخلصات الكحولية للأجزاء النباتية الثلاثة ، كانت نسب الاستخلاص كما هي مبينة بالجدول (4–1) ، وكانت جميع المستخلصات الناتجة صلبة القوام وذات لون بني داكن .

جدول (4–1) النسب المئوية للاستخلاص الخام للأجزاء الثلاثة من نبات عين البزون

نوع المستخلص	النسبة المئوية للإستخلاص (%)		
	الأوراق	الأزهار	البذور
المائي	12.6	5.5	8.8
الكحولي (الأثيلي)	4.2	1.3	2.1

4-2 الكشف الكيميائي التمهيدي (الإستدلالي) لمركبات الأيض الثانوي في مستخلصات نبات عين البزون :

تبين من خلال إجراء الكشوفات الكيميائية للمستخلصات المائية والكحولية للأجزاء النباتية الثلاثة (أوراق ، أزهار ، بذور) ، النتائج الموضحة في الجدول (4-2) أدناه :

جدول (4-2) الكشف الكيميائي التمهيدي (الإستدلالي) لمستخلصات نبات عين البزون

المجموعة الكيميائية	المستخلص المائي			المستخلص الكحولي		
	أوراق	أزهار	بذور	أوراق	أزهار	بذور
التانينات	–	–	–	+	+	–
التربينات	+	+	+	+	+	+
الراتنجات	–	–	–	–	–	–
الستيرويدات	-	–	–	–	–	–
الصابونيات	–	–	–	–	–	–
الفلافونويدات	+	+	+	+	+	+
القلويدات	+	+	+	+	+	+
الكلايكوسيدات	+	+	+	+	+	+
الكومارينات	–	–	–	–	–	–

علامة (+) تدل على إيجابية الكشف

علامة (–) تدل على سلبية الكشف

4-3 التأثيرات السمية لمستخلصات نبات عين البزون الخام في خطوط الخلايا السرطانية والخلايا الطبيعية :

درس التأثير السمي الخلوي لثلاثة أنواع من المستخلصات الخام لأجزاء نبات عين البزون (الأوراق والأزهار والبذور) بنوعيها المائي والكحولي على نوعين من خطوط الخلايا السرطانية وهي Hep-2 و AMN-3 ، فضلاً عن نوع واحد من الخلايا الطبيعية (REF) ، وخلال ثلاثة فترات زمنية للتعريض (24 , 48 , 72) ساعة ، وباستخدام تراكيز مختلفة تراوحت ما بين (1000 - 1.98) مكغم/مل بتخافيف ثنائية متسلسلة .

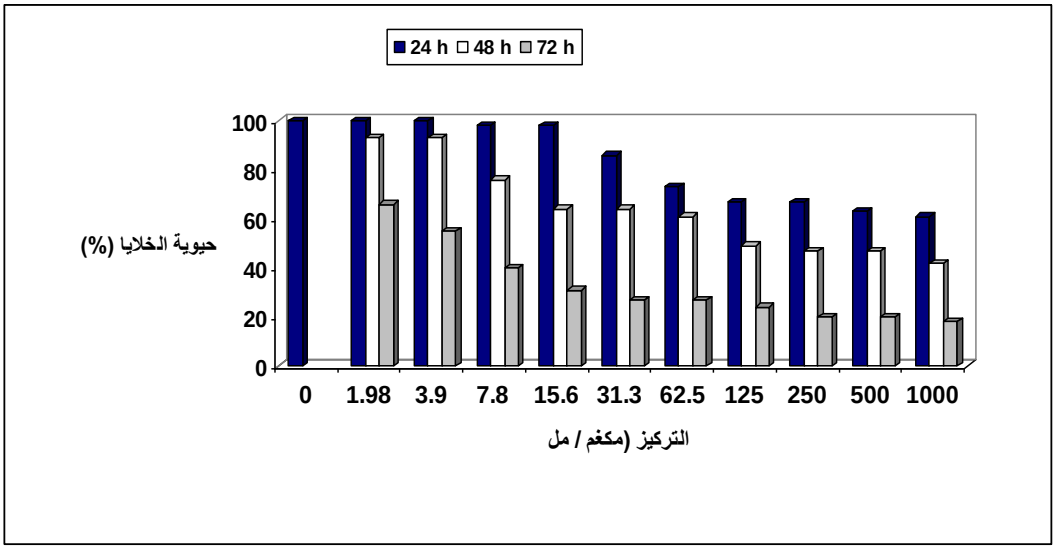
اعتمدت دراسة التأثيرات السمية على استخراج النسبة المئوية لمعدل الخلايا الحية (Cell viability) بعد التعريض مقارنة بالسيطرة التي يعد معدل نموها (100%) بعد صبغ الخلايا الحية بصبغة Crystal violet ، ثم قياس الكثافة الضوئية عند طول موجي 492 نانوميتر، إذ تعد شدة اللون تعبيراً عن عدد تلك الخلايا .

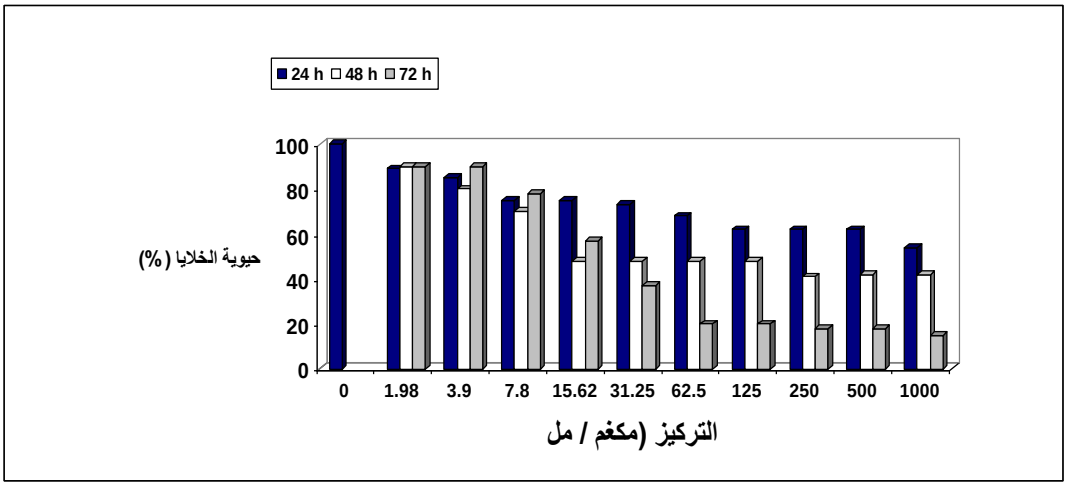
4-3-1 تأثير مستخلصات نبات عين البزون في خلايا سرطان الحنجرة البشري (خط Hep-2):

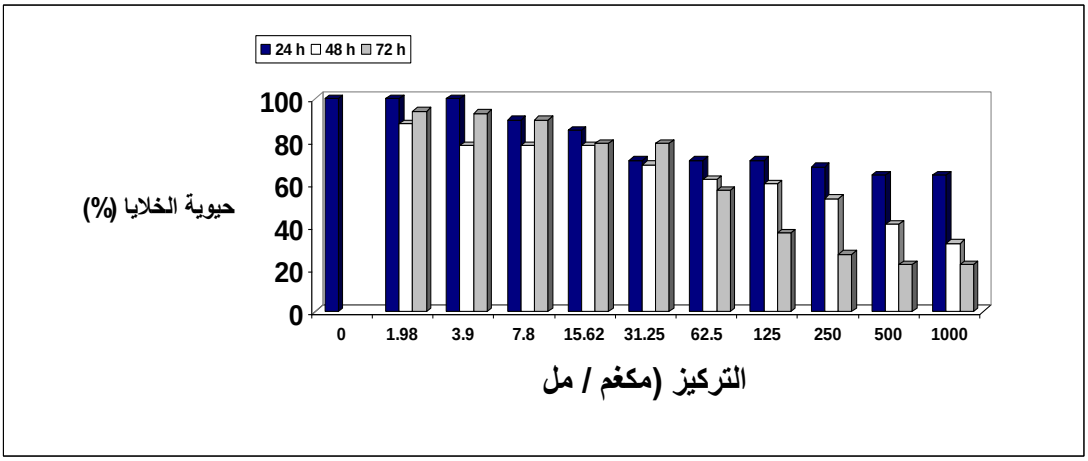
4-3-1-1 المستخلصات المائية (أوراق ، أزهار ، بذور)

البزون في خط خلايا (Hep-2) اعتمد على التركيز المستخدم ووقت التعريض ، إذ بينت نتائج التحليل االاحصائي أن أنواع المستخلصات الثلاثة (الأوراق ، الأزهار ، البذور) ، لم يكن لها تأثيرات سمية على خلايا الـ Hep-2 بعد مرور 24 ساعة من التعريض فلم تظهر فروقاً معنويةً مقارنةً بمعاملة السيطرة ($p<0.05$) إلا عند إستخدام التراكيز المرتفعة فقط والتي تراوحت ما بين (1000 – 31.25) مكغم/مل لكل نوع منها ، كما لم تظهر أي فروقات فيما بين التراكيز المستخدمة ، في حين بدأ ظهور التأثير التثبيطي المعنوي بعد (48) ساعة ، ووصلت نسبة التثبيط إلى أعلى قيمة بعد (72) ساعة ولأنواع المستخلصات جميعها .إذ يلحظ انخفاض في النسبة المئوية لحيوية الخلايا الى (22,15,18) % اي بنسبة تثبيط نمو مقدارها (85,82, 78) % عند استخدام التركيز (1000) مكغم/مل بعد (72) ساعة لمستخلصات الأوراق والأزهار والبذور على الترتيب . أما التراكيز الواطئة ومنها (1.98) مكغم/مل فلم يكن تأثيرها القاتل معنوياً ($p<0.05$) إلا بعد (72) ساعة من التعريض باستخدام مستخلص الأوراق المائي ، أما مستخلصا الأزهار والبذور فكان تاثيرهما غير معنوي ($p>0.05$)، فقد بلغت حيوية الخلايا لهما (90 , 94) % على الترتيب عند التركيز نفسه .

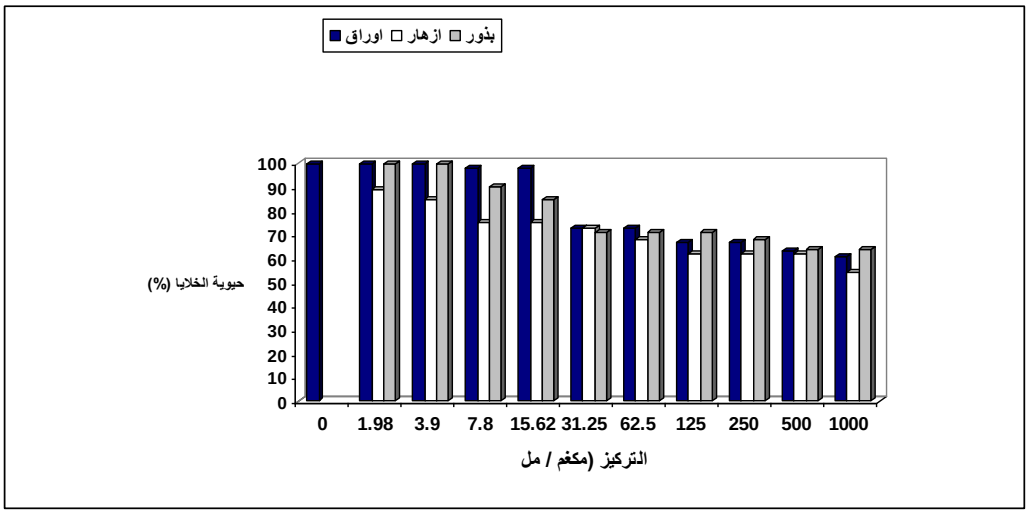
عند مقارنة تاثير المستخلصات الثلاثة فيما بينها عند كل تركيز مستخدم ، فيلحظ عدم وجود فروق معنوية تذكر بمستوى ($p>0.05$) بعد (24) ساعة من التعريض . أما بعد التعريض لمدة (48) ساعة فقد وجد أن هناك تاثيرات معنوية باستعمال مستخلص الأزهار المائي مقارنة بالنوعين الاخرين ، لكن ظهر التأثير التثبيطي للأوراق معنوياً ($p<0.05$) حتى عند اوطأ التراكيز المستخدمة فبلغ (34) % عند التركيز (1.98) مكغم/مل بعد (72) ساعة ، أي بنسبة حيوية مقدارها (66%) مقارنة بالازهار والبذور . في حين لم تكن الفروق معنوية ($P>0.05$) عند استخدام التراكيز المرتفعة من المستخلصات المدروسة عند مقارنتها مع بعضها البعض الشكل (2/أ ، ب ، ج) .

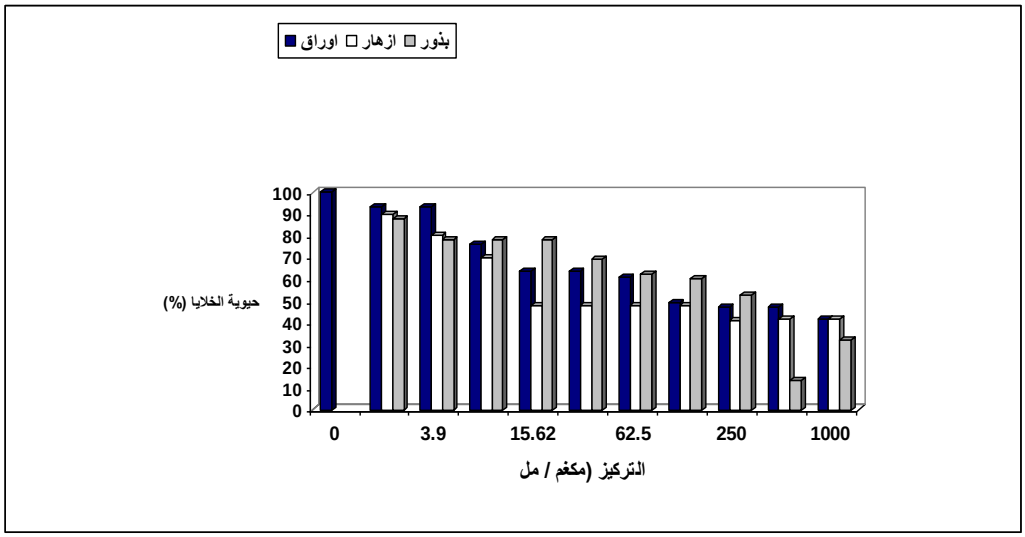




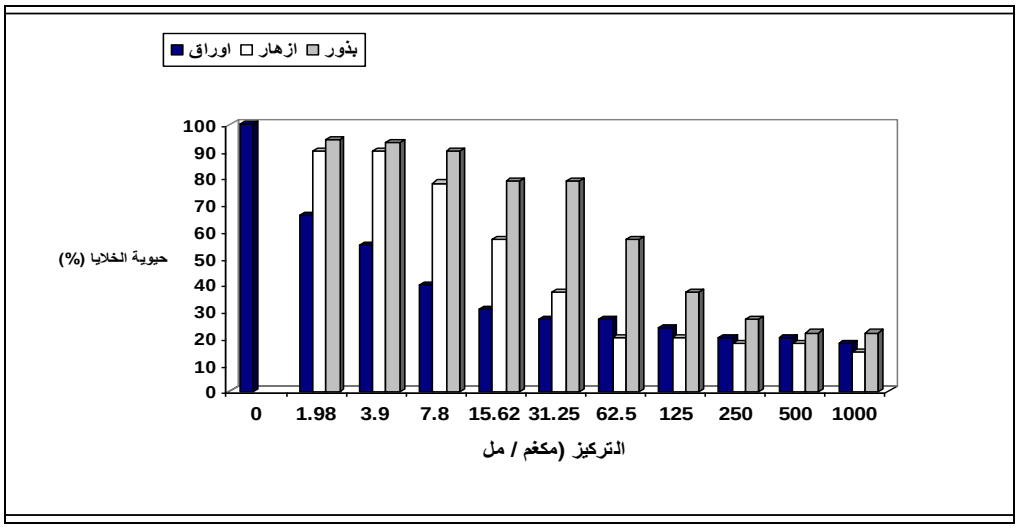


الشكل(1) تأثير المستخلصات المائية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .





0



الشكل (2) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون المائية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) .

4-1-3-2 المستخلصات الكحولية (أوراق ، أزهار ، بذور)

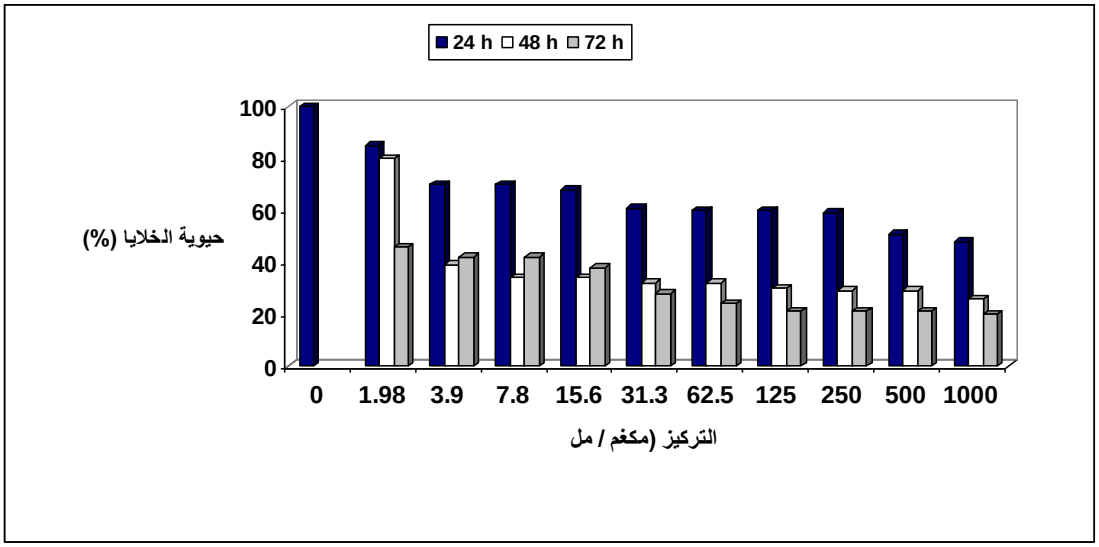
بينت النتائج ان التأثير التثبيطي للمستخلصات الكحولية مماثل لتأثير المستخلصات المائية في اطاره العام ، فقد اعتمد على التركيز المستخدم ووقت التعريض .

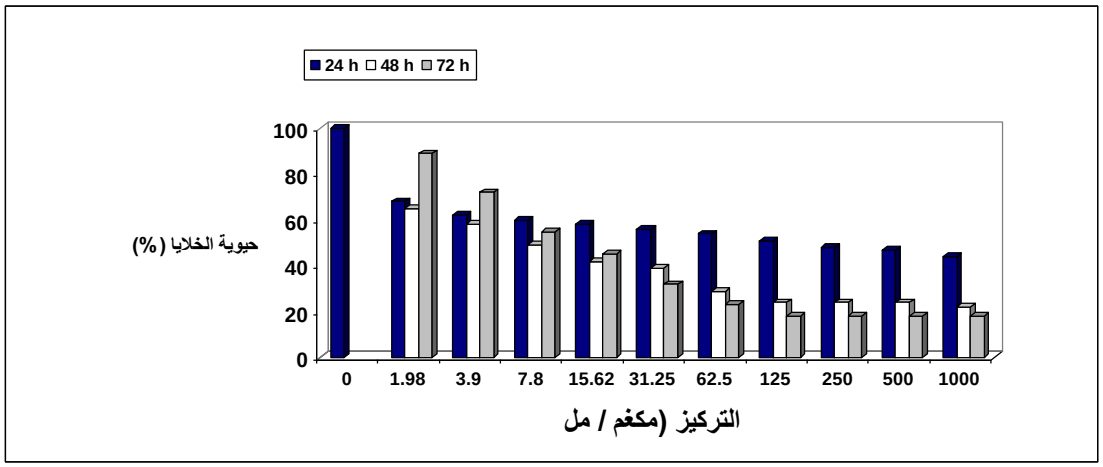
يبيّن الشكل (3/أ) أن تعريض خلايا (Hep-2) إلى كافة تراكيز مستخلص أوراق نبات عين البزون الكحولي قد سجل انخفاضاً معنويا($P<0.05$) في حيوية الخلايا مقارنة مع مجموعة السيطرة منذ الـ (24) ساعة الاولى ، وقد ازداد التأثير السمي بزيادة الفترة الزمنية للتعرض وبصورة طردية مع ارتفاع التركيز ليصل الى أعلى نسبة تثبيط نمو بعد (72) ساعة حتى عند استخدام التراكيز الواطئة ، فقد تراوحت النسبة المئوية لحيوية الخلايا ما بين (46-20%) للتراكيز (1.98 - 1000) مكغم/مل[نسبة تثبيط نمو تراوحت ما بين (54-80) %] .

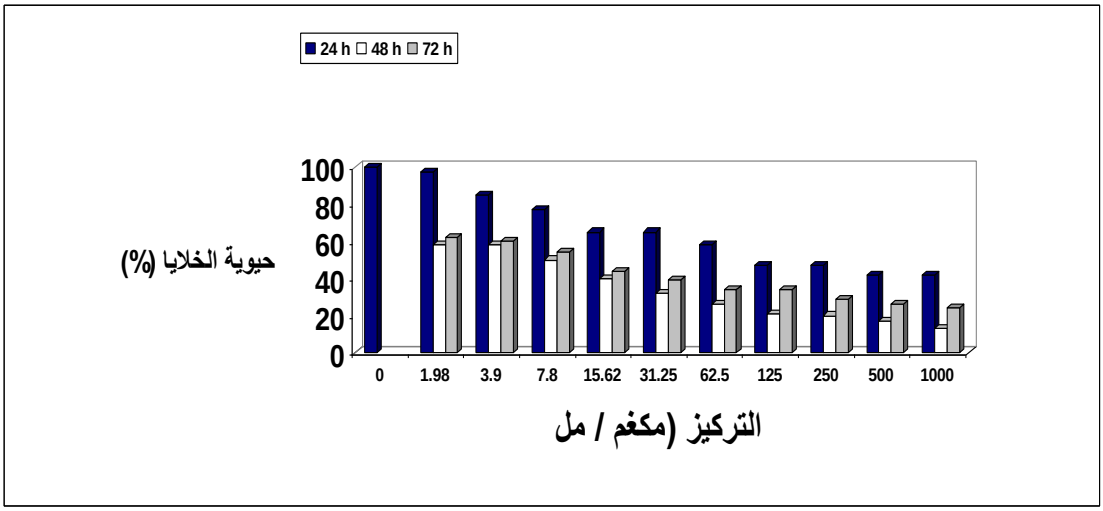
لقد تم الحصول على التاثير التثبيطي نفسه عند المعاملة بمستخلص الازهار الكحولي بعد (24 ، 48) ساعة ، فقد قلت حيوية الخلايا بصورة معنوية ($p<0.05$) وبصورة تدريجية من التركيز الواطيء الى أعلى تركيز مستخدم مقارنة مع مجموعة السيطرة . في حين انخفضت نسبة تثبيط النمو وعاودت حيوية الخلايا في الإرتفاع بعد (72) ساعة عند إستخدام التراكيز الواطئة التي تراوحت ما بين (1.98 - 15.62) مكغم/مل ، لكن بدأت تقل من جديد عند التركيز (31.25) مكغم/مل والى (1000) مكغم/مل لتصل الحيوية الى (18%) ، أي بنسبة تثبيط مقدارها (82%) ، الشكل (3 / ب) .

أما المعاملة بمستخلص البذور فقد أظهرت النتائج وجود فروقات مهمة إحصائيا ($P<0.05$)في التأثير السمي عند المعاملة بكافة التراكيز المستعملة ولكافة فترات التعريض (باستثناء التركيز 1.98 مكغم /مل عند التعرض لمدة 24 ساعة) عند المقارنة بمجاميع السيطرة كما أظهرت النتائج أن التعرض لمدة 48 ساعة كان ذا فرق معنوي بالمقارنة مع فترتي التعرض الأخيرتين(24و72) ساعة وذلك بعد المعاملة بالتراكيز (1000,31.25) مكغم /مل، وكما موضح بالشكل (3 / ج) .

من جانب آخر ، أظهرت نتائج التحليل الإحصائي أن هناك فرقاً معنوياً في التأثير ($p<0.05$) عند المقارنة بين انواع المستخلصات الكحولية الثلاثة في كل تركيز مستخدم عند المعاملة بالتراكيز الواطئة وفي كل فترة زمنية . في حين كانت الفروق غير معنوية ($p>0.05$) عند المقارنة بين أعداد الخلايا الحية في التراكيز المرتفعة (لكل تركيز مستخدم) فيما بين انواع المستخلصات المستعملة ، وكما هو موضح في الشكل (4/ أ ، ب ، ج) .







الشكل(3) تأثير المستخلصات الكحولية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .

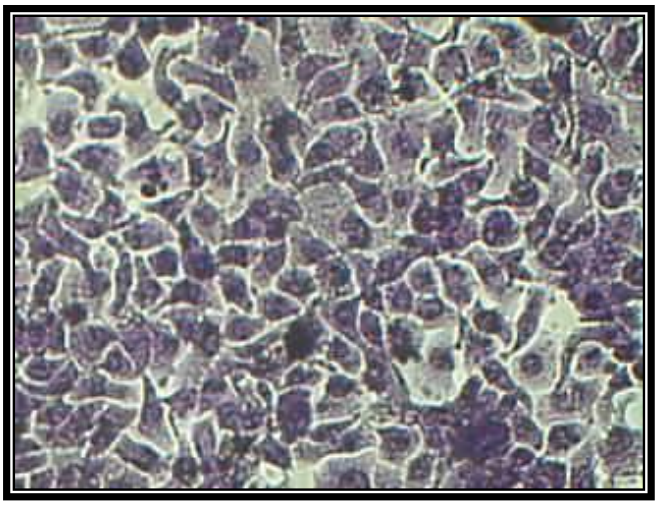
الشكل (4) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون الكحولية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) .

3-1-3-4 دراسة مقارنة بين التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون

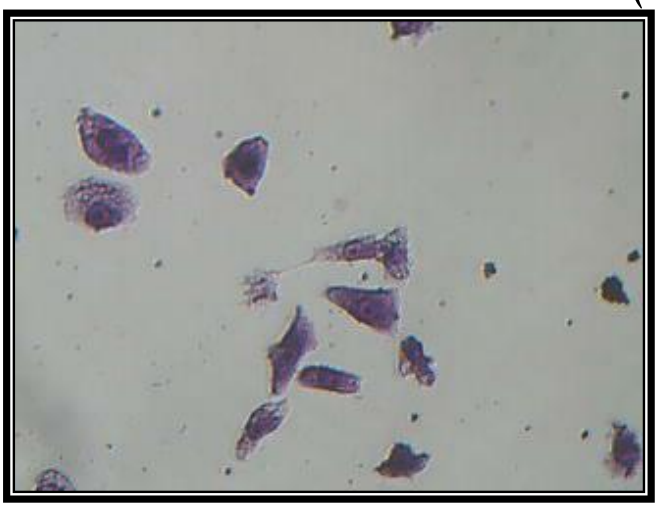
عند مقارنة التأثير التثبيطي لنمو خلايا سرطان الحنجرة البشري عند معاملتها بمستخلصات نبات عين البزون المختلفة ، يلحظ أن هناك اختلافاً في سمية المستخلصين المائي والكحولي ، فقد وجد ان هذه الخلايا أكثر حساسية للمستخلصات الكحولية وبأنواعها الثلاثة (الأوراق والأزهار والبذور) ، فقد سببت إنخفاضاً في حيوية الخلايا عند إستخدام اوطأ التراكيز (1.98) مكغم/مل ، فبلغت (58,65,46) % على التوالي ، مقارنةً بنسبة حيوية مرتفعة مقدارها (94,90,66) % عند المعاملة بالتركيز نفسه من المستخلصات المائية . اما عند استخدام التراكيز المرتفعة فان الحيوية تبدأ تقل تدريجياً وبصورة طردية مع إرتفاع التركيز ، إذ يصبح تاثير المستخلصين (المائي والكحولي) متقارباً فبلغ (26,18) % للأوراق و (22,15) % للازهار و (13,22) % للبذور عند المعاملة بالتركيز (1000) مكغم/مل وعلى الترتيب ، اي بنسبة ثبيط نمو مقدارها [(74,82) و (78,85) و (87,78) %] على التوالي .

يوضح الشكل (5/ أ ، ب ، ج) الفرق في التاثير السمي عند المعاملة بكلا المستخلصين المائي والكحولي ولكل نوع من تلك المستخلصات ، والصورة (2) توضح الفرق بين خلايا Hep-2 في معاملة السيطرة مقارنة مع المعاملة بمستخلصات نبات عين البزون .

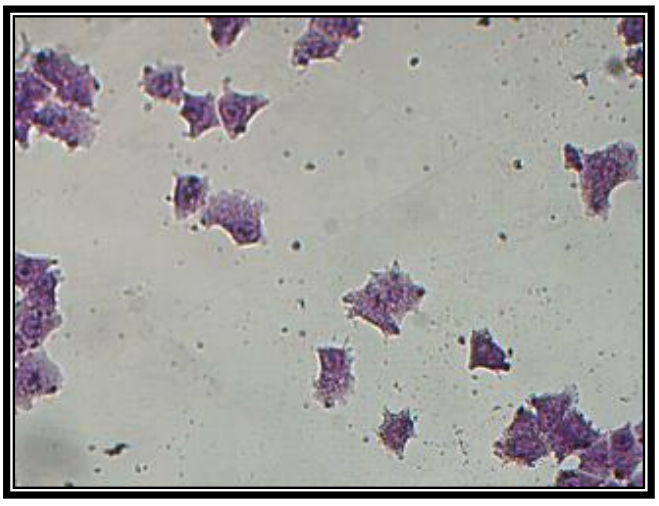
الشكل (5) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون في خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) .



(



.



.

الصورة (2) مقارنة بين خلايا Hep-2 في معاملة السيطرة (غير المعاملة) مع أخرى تمت معاملتها بالمستخلصات الخام لنبات عين البزون، عند التركيز (1000) مكغم/مل بعد 72 ساعةمن التعريض (crystal violet, 400 X)

4-3-2 تاثير مستخلصات نبات عين البزون في خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (خط AMN-3)

تم معاملة خلايا (AMN-3) بمستخلصات النبات كافة وهي بالتمريرة (46) ، للتحري عن حساسية تلك الخلايا تجاه المواد المستخلصة ، ومنها تم الحصول على النتائج الآتية :

4-3-2-1 المستخلصات المائية (أوراق ، أزهار ، بذور)

تبين النتائج المشار اليها في الشكل (6/ أ ، ب ، ج) إن مستخلصات نبات عين البزون المائية لم تمتلك تاثيراً تثبيطياً كبيراً في خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري ، بعد التعريض لمدة (24) ساعة بالرغم من إنخفاض حيوية الخلايا عند المعاملة بالتراكيز المرتفعة منها ، ولأنواع المستخلصات الثلاثة كافة .إذ لم تُظهر نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($p>0.05$) بين معامل السيطرة والتراكيز المستخدمة من جانب ، وفيما بين التراكيز نفسها من جانب آخر . في حين ظهر افضل تثبيط نمو لتلك الخلايا بعد (48) ساعة من المعاملة بالتراكيز المرتفعة منها وبفروق معنوية ($p<0.05$) فقد بلغت نسب تثبيط النمو اي بنسبة تثبيط نمو مقدارها (75,73,74) % للمستخلصات المائية لكل من الأوراق والأزهار والبذور على الترتيب عند استخدام التركيز (1000) مكغم/مل .

أما بعد (72) ساعة ، فيلحظ أن حيوية الخلايا أخذت بالإرتفاع مقارنة بالفترتين الاولى والثانية لاسيما عند التراكيز الواطئة ، وبفروق معنوية مقارنةً بالسيطرة . بمعنى آخر سبّبت التراكيز الواطئة تحفيز نمو خلايا (AMN-3) ، فلقد بلغت النسبة المئوية لحيوية الخلايا (298 ,147) % عند المعاملة بالمستخلص المائي للأوراق بالتركيزين (3.9,1.98) مكغم/مل ، وتراوحت ما بين (266 إلى 150) % للمستخلص المائي للأزهار بتراكيزه النصفية ما بين (1.98 الى 15.62) مكغم/مل ، واخيراً تراوحت ما بين (260 الى 152) % لمستخلص البذور للتراكيز ما بين (1.98 الى62.5) مكغم/مل .

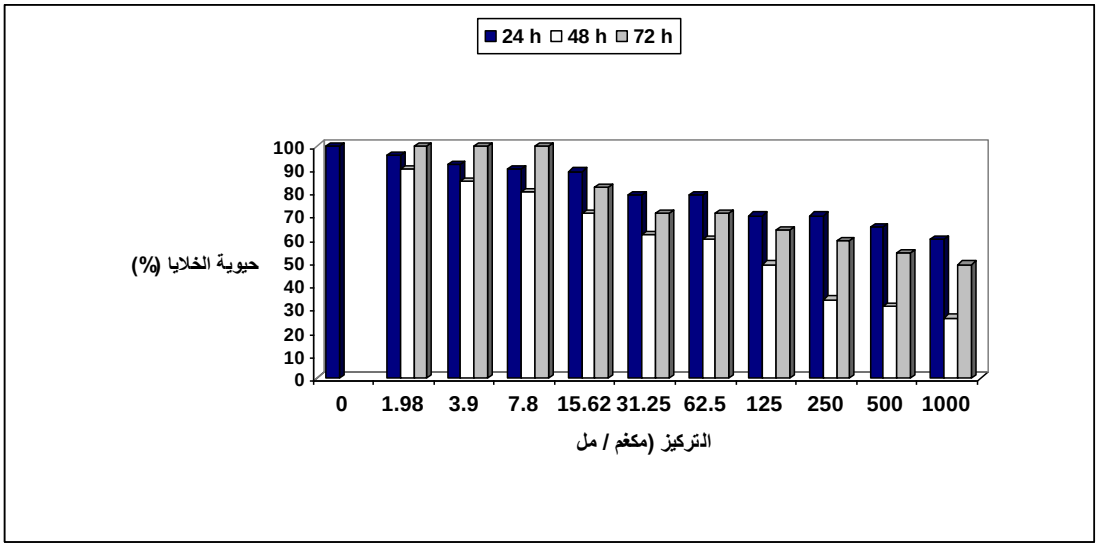
ولغرض التحري عن أفضل أنواع المستخلصات تأثيراً ، تمت المقارنة فيما بينها لكل تركيز مستخدم ، فقد بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية ($p>0.05$) بين حيوية الخلايا عند المعاملة بالمستخلصات المائية للأوراق والأزهار والبذور عند كل تركيز مستخدم بعد (24) ساعة من التعريض ، الشكل (7 / أ) .

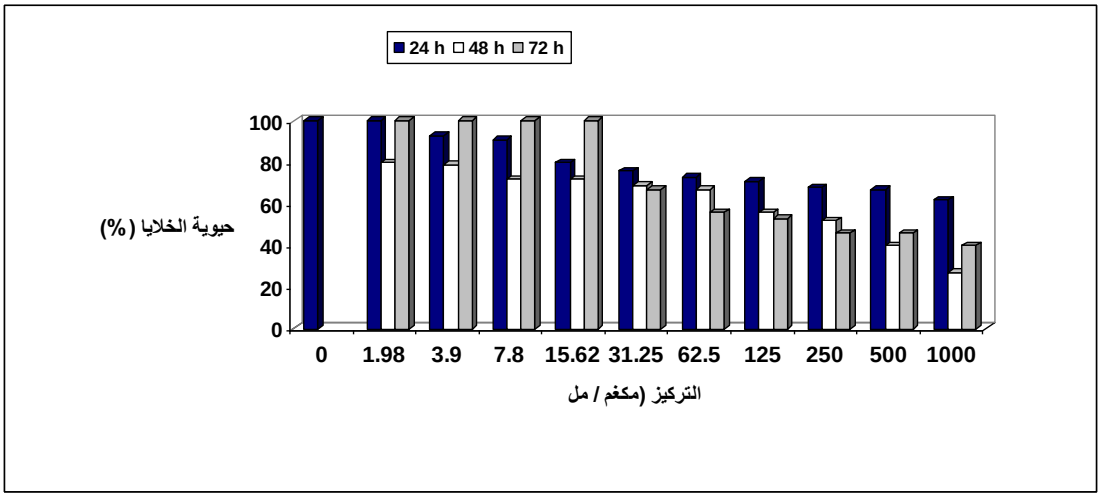
أما بعد (48) ساعة ، فقد وجد ان هناك فرقاً معنوياً بين تأثير مستخلص البذور وكل من مستخلصي الأزهار والأوراق ، في حين لم تظهر بين المستخلصين الأخيرين عند التراكيز الواطئة ،

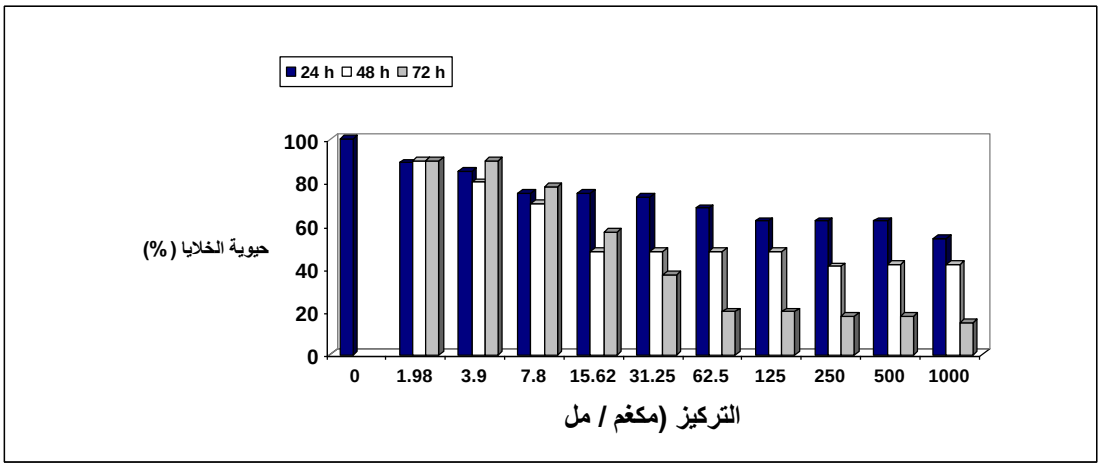
اما عند المعاملة بالتراكيز المرتفعة (500, 1000) مكغم/مل فإن التأثير السمي القاتل كان متماثلاً ولا وجود للفروق الإحصائية المعنوية بين أنواع المستخلصات الثلاثة ، الشكل (7 / ب) .

من جانب آخر فأن التراكيز الواطئة أظهرت ارتفاع في حيوية الخلايا بنسب عالية وبفروق معنوية بين أنواع المستخلصات المستخدمة بعد التعريض لمدة 72ساعة . أما التأثير المثبط لنمو الخلايا فقد أظهره مستخلصي الأوراق والأزهار وبفروق غير معنوية بينهما وذلك عند استخدامهما بالتراكيز (1000,500,250,125,62.5,31.25) مكغم / مل .

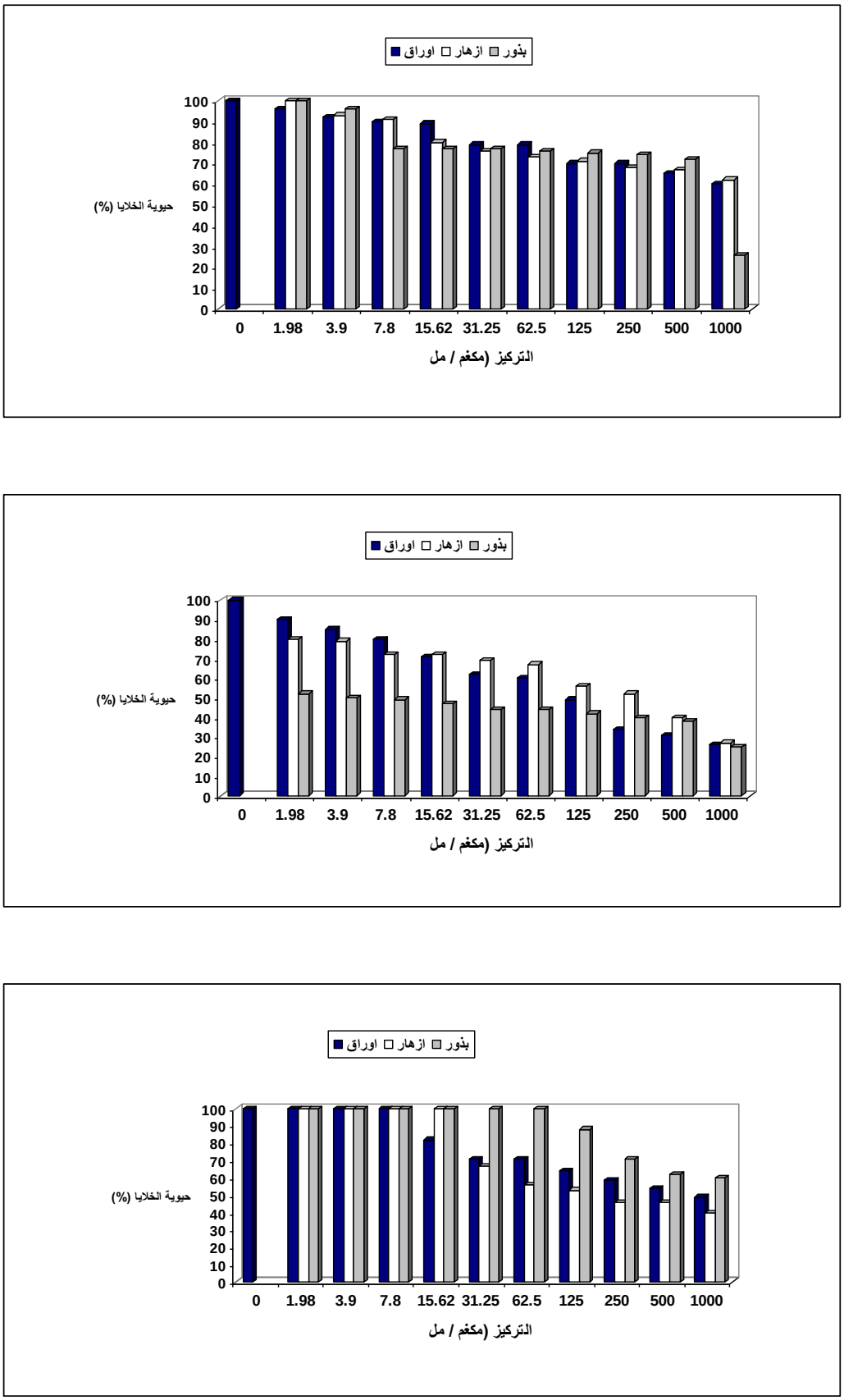
أما مستخلص البذور فقد أظهر تأثيره المثبط للنمو عند استخدامه بالتراكيز الأربعة العالية دون فروق معنوية عن المستخلصين الآخرين وهذا موضح بالشكل (7 /ج) .







الشكل (6) تأثير المستخلصات المائية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .



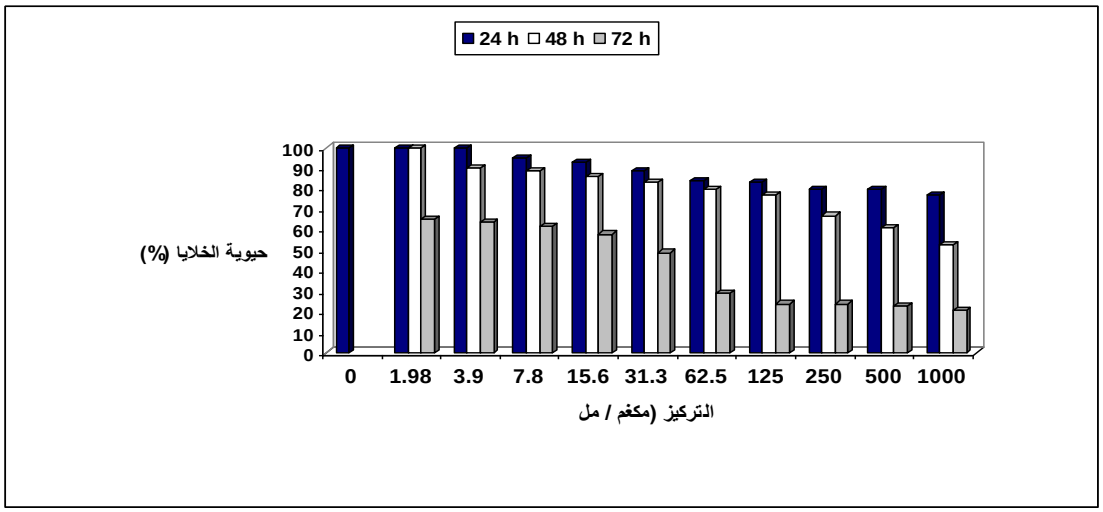
الشكل (7) مقارنة بين تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية (ألأوراق ، ألأزهار، البذور) في حيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) .

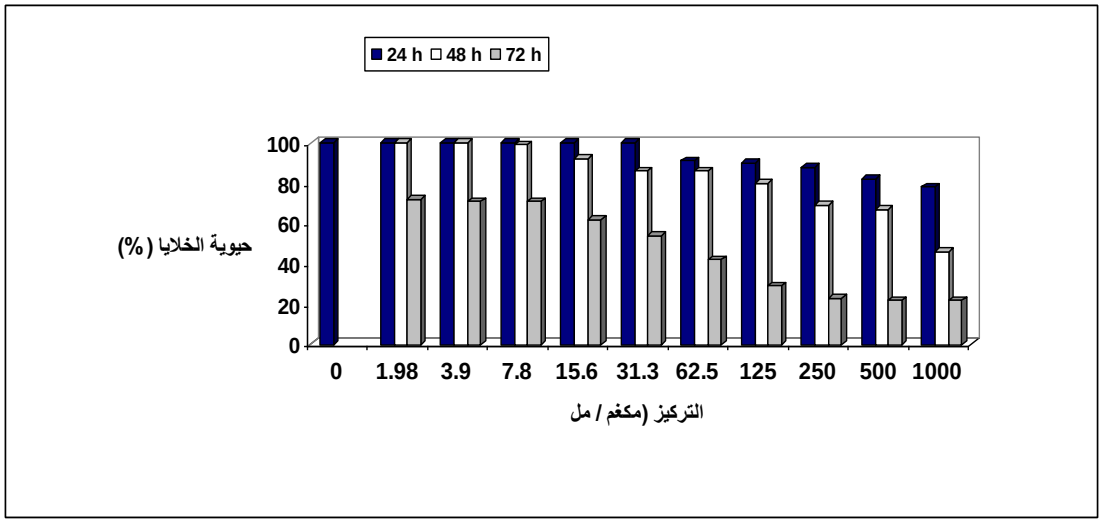
4-3-2-2 المستخلصات الكحولية (أوراق ، أزهار ، بذور)

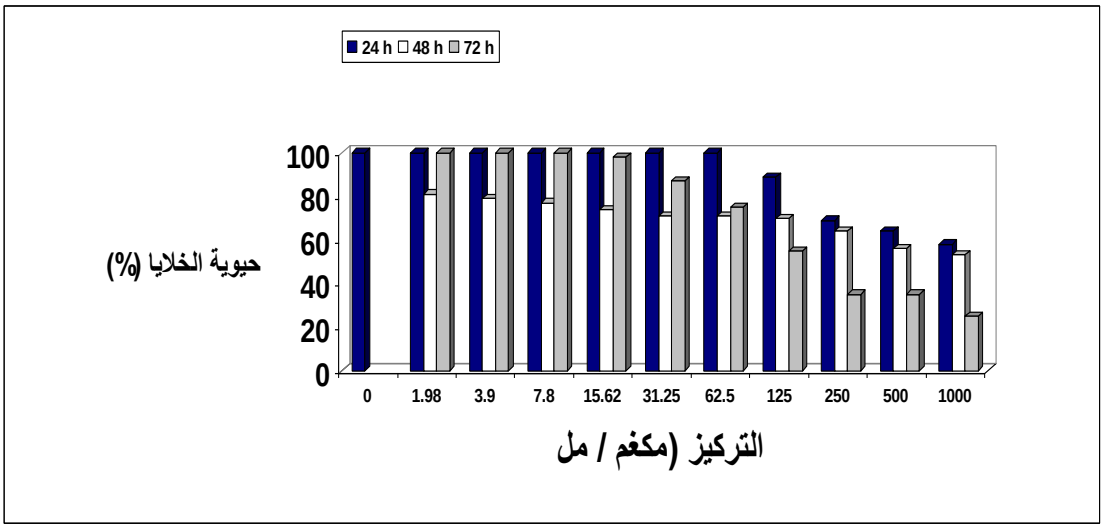
وجد أن أفضل تأثير سمي في خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري ، قد ظهر بعد (72) ساعة من التعريض للمستخلصات الكحولية بانواعها كافة ، وبفروق معنوية مقارنةً بمعاملات السيطرة ، إذ يزداد التأثير السمي ويثبط نمو الخلايا بصورة طردية مع إرتفاع التركيز ، فقد بلغت الحيوية (25 , 21 , 22) % لمستخلصات الاوراق والازهار والبذور على الترتيب عند المعاملة بالتركيز (1000) مكغم/مل .

أما التعريض لمدة (24) ساعة وبتر اكيز واطئة فانها سببت رفع نسبة حيوية الخلايا مقارنةً بالسيطرة ، ويشير الشكل (8/ أ ، ب ، ج) إلى تأثير المستخلصات الكحولية وتباينها حسب فترة التعريض .

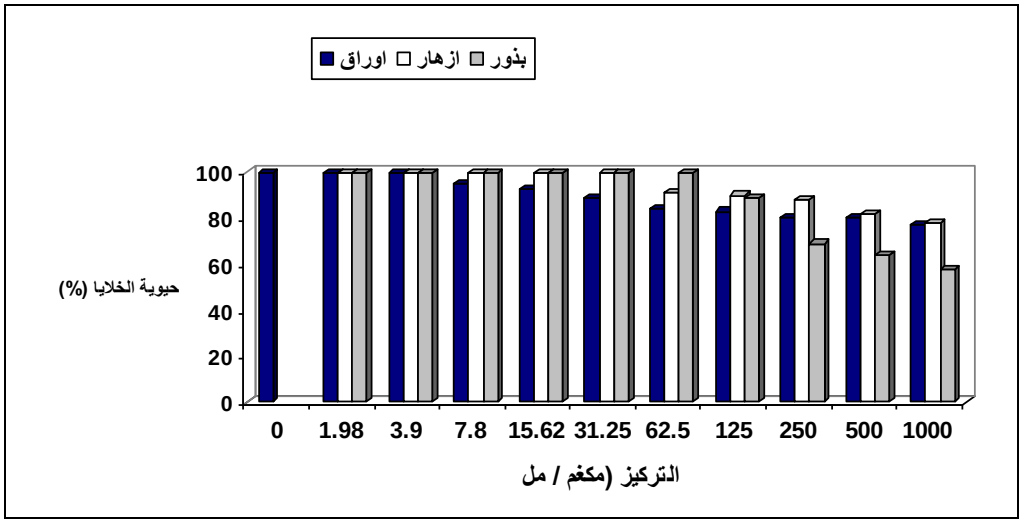
أما الشكل (9/ أ ، ب ، ج) فيوضح المقارنة بين أنواع المستخلصات الثلاثة في كل تركيز مستعمل وحسب كل فترة زمنية للتعريض ، فقد أكدت نتائج التحليل الأحصائي وجود الفروق المعنوية بين النسبة المئوية لحيوية الخلايا عند استخدام التراكيز الواطئة بين مستخلصات الاوراق والازهار والبذور بعد (72) ساعة من المعاملة ، والتي تصبح غير معنوية عند استخدام التراكيز المرتفعة (250 , 500 , 1000) مكغم/مل ، في حين لم تكن هناك فروقاً تذكر خلال الـ (24 , 48) ساعة من التعريض .

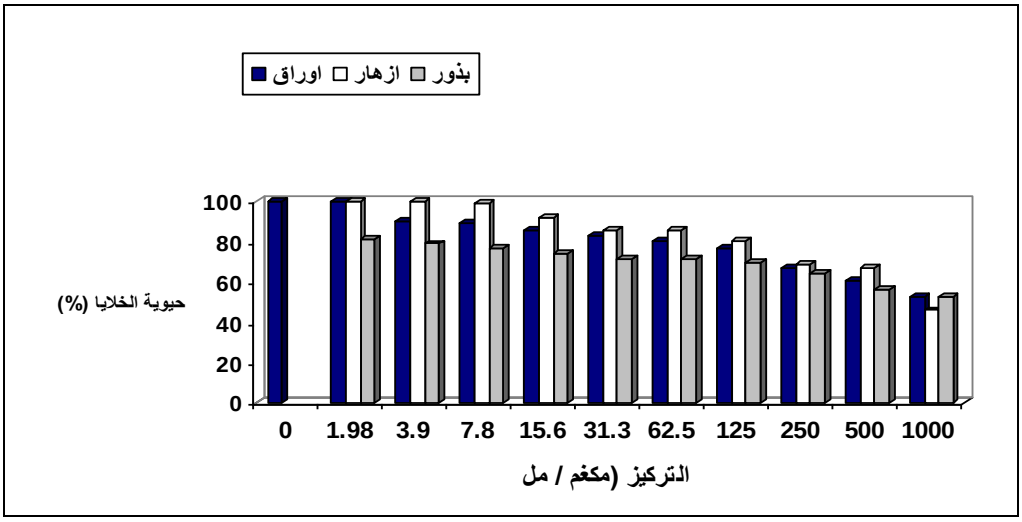


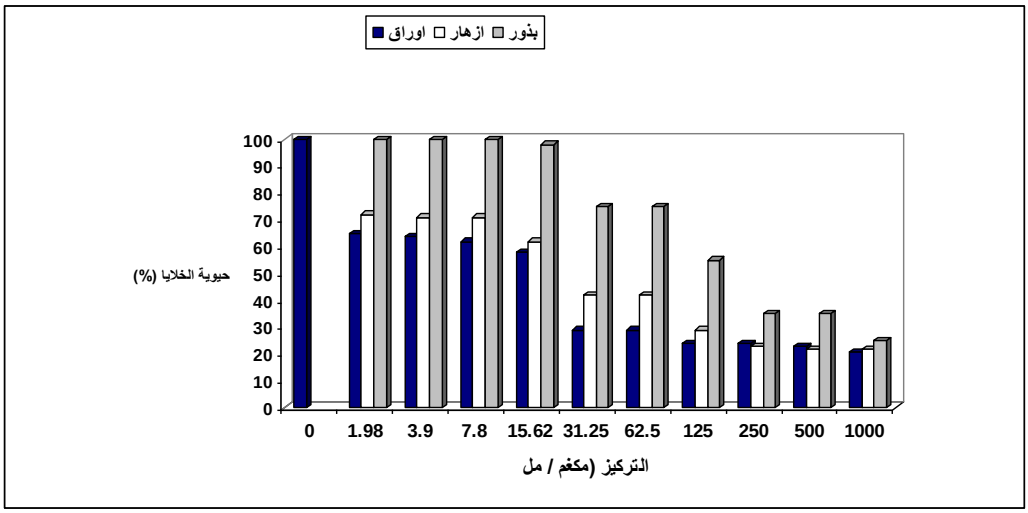




الشكل (8) تأثير المستخلصات الكحولية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) بعد التعريض لفترات زمنية مختلفة .





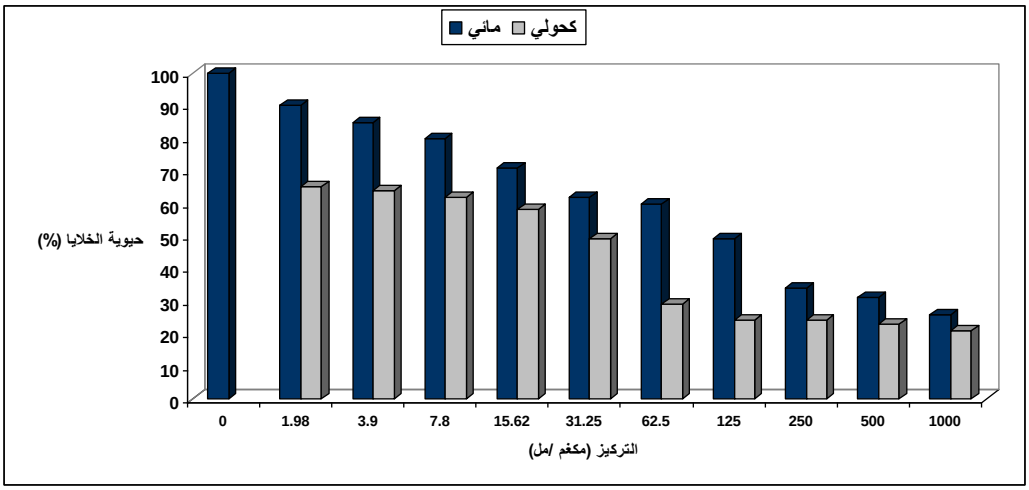


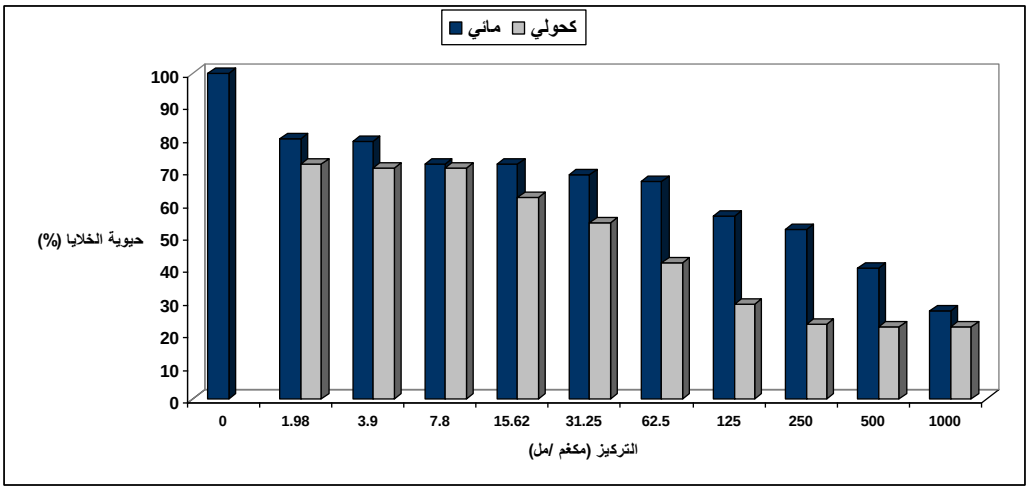
الشكل (9) مقارنة بين تأثير مستخلصات عين البزون الكحولية (ألأوراق ، ألأزهار ، البذور) في حيوية خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) .

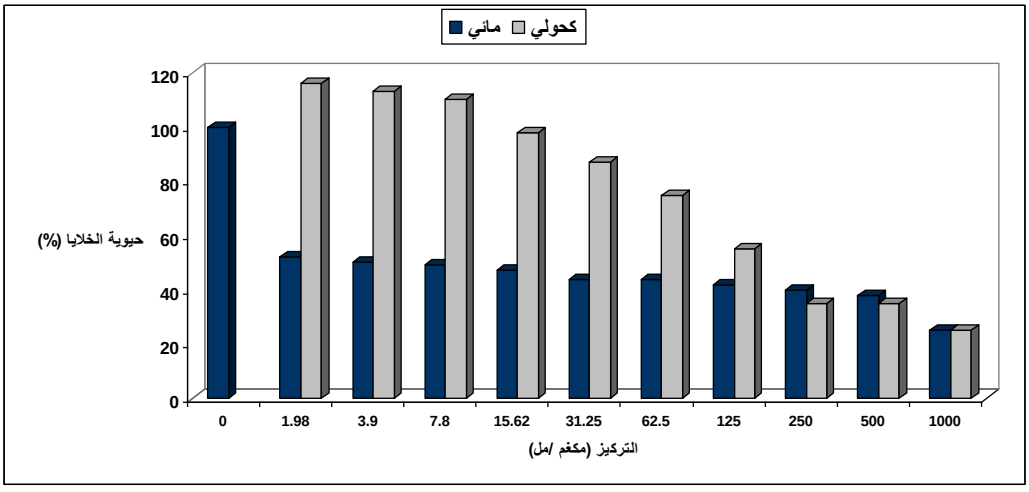
3-2-3-4 دراسة مقارنة بين التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون

وجد من خلال النتائج التي اعتمدت على مقارنة حيوية الخلايا السرطانية (AMN-3) ، أن المستخلصين الكحوليين للأوراق والأزهار هما أكثر كفاءة في تثبيط نمو تلك الخلايا من المستخلصات المائية لكليهما . فقد تراوحت حيوية الخلايا ما بين (65-29) % بالنسبة لمستخلص الأوراق الكحولي ، في حين تراوحت ما بين (90-60) % للمستخلص المائي عند استخدام التراكيز ما بين (1.98 - 62.5) مكغم/مل وبتخافيف نصفية متسلسلة ، أما التأثير التثبيطي عند المعاملة بالتراكيز المرتفعة فكان بدون فروق معنوية ، الشكل (10 / أ) . ولقد تم الحصول على التأثير نفسه عند المعاملة بمستخلصات الأزهار، الشكل (10 /ب) .

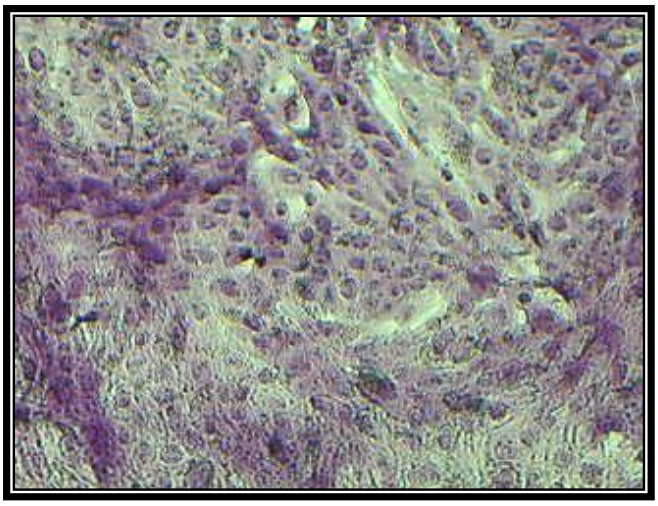
أما فيما يخص مستخلصات البذور فقد كانت النتائج متعاكسة ، فقد أعطى مستخلصه المائي تأثيراً سمّياً عند أوطأ التراكيز ، فبلغت نسبة حيوية الخلايا (52%) عند التركيز (1.98) مكغم/مل ، مقارنة بحدوث تحفيز في نمو تلك الخلايا عند المعاملة بالتركيز نفسه من مستخلص البذور الكحولي ، أما التراكيز المرتفعة فقد تشابه تأثيرها مع تأثير مستخلصي الأوراق والأزهار [الشكل (10/ج)] ، والصورة (3) توضح الفرق بين خلايا AMN-3 في معاملة السيطرة مقارنة مع المعاملة بمستخلصات نبات عين البزون .



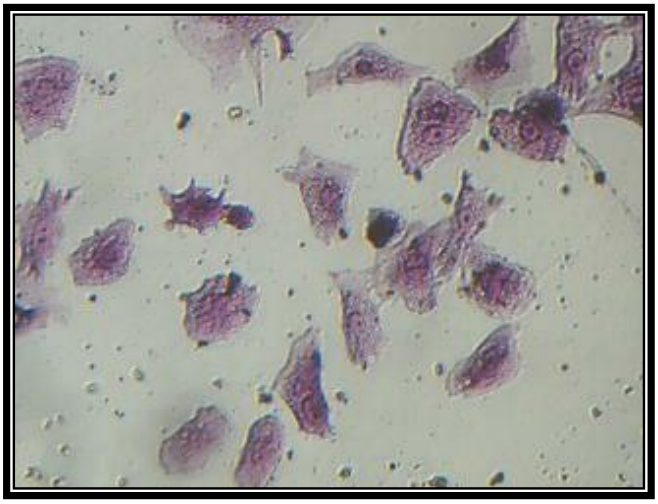


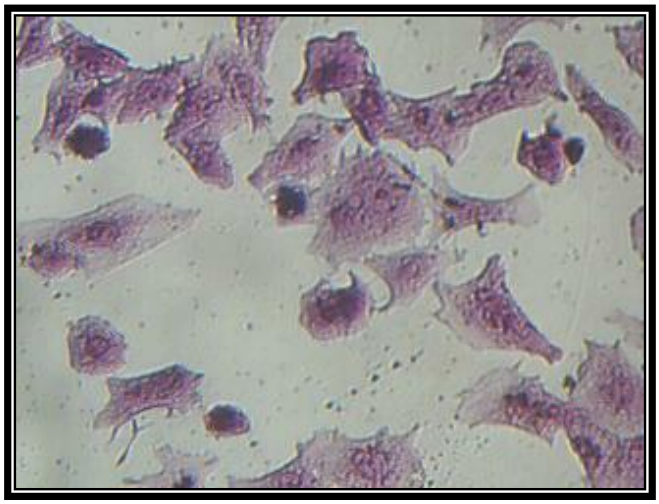


الشكل (10) مقارنة التأثير السمي للمستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون في خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN-3) .



)





ج- الخلايا المعاملة بالمستخلص المائي للبذور

الصورة (3) مقارنة بين خلايا AMN-3 في معاملة السيطرة (غير المعاملة) مع أخرى تمت معاملتها بالمستخلصات الخام لنبات عين البزون ، عند التركيز (1000) مكغم/مل بعد 72 ساعة من التعريض (crystal violet, 400 X)

3-3-4 تأثير مستخلصات نبات عين البزون في الخط الخلوي لجنين الجرذ (REF)

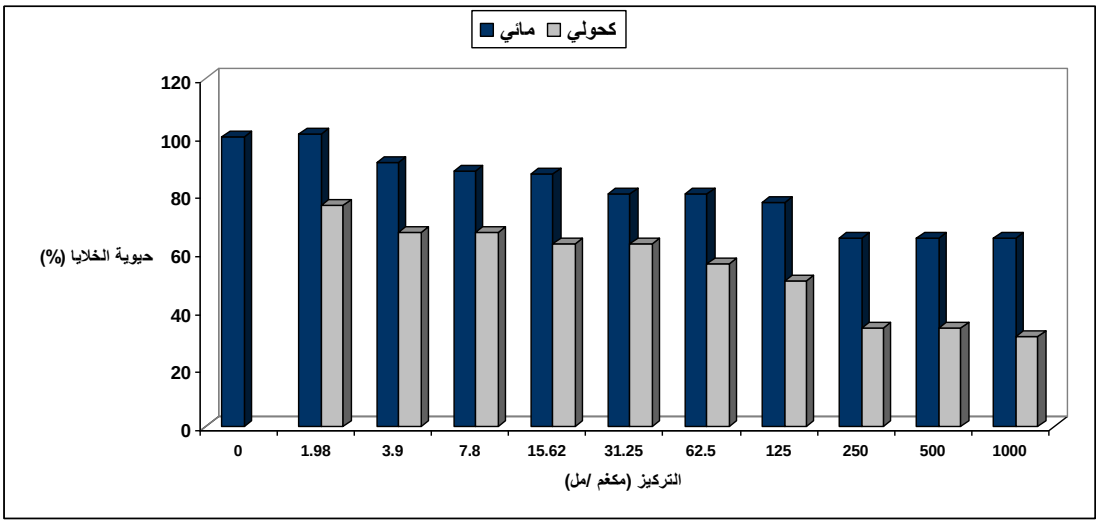
تم دراسة التأثيرات السمية للمستخلصات في خلايا هذا الخط وهي بالتمريرة (16) .

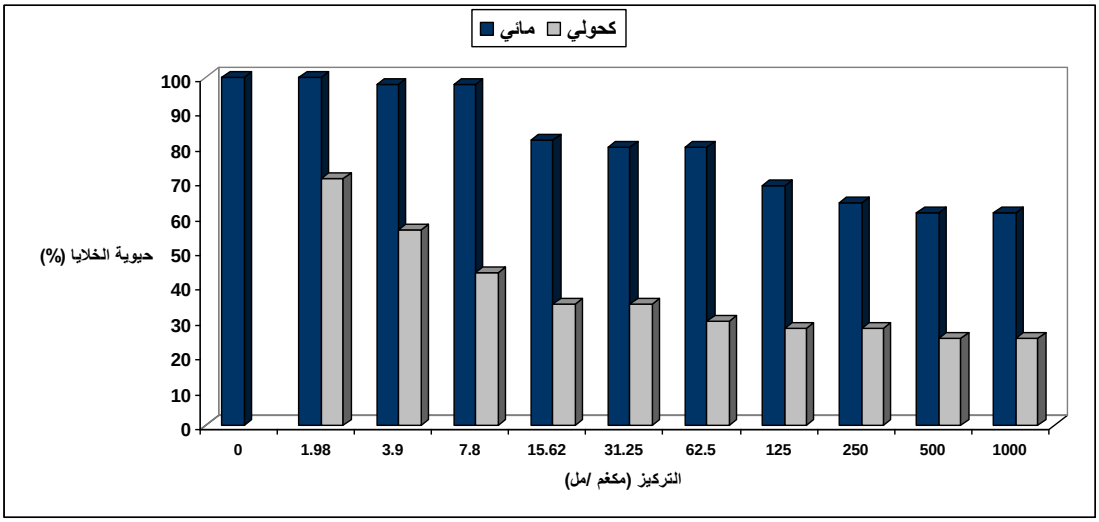
ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها وُجد أن خلايا هذا الخط مقاومة لتأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون كافة بعد تعرضها لمدة (24 ، 48) ساعة ، إذ لم تكن الفروق الإحصائية الظاهرة معنوية ($p>0.05$) مقارنةً بمعاملة السيطرة من جهة وفيما بين التراكيز المستعملة من جهة أخرى .

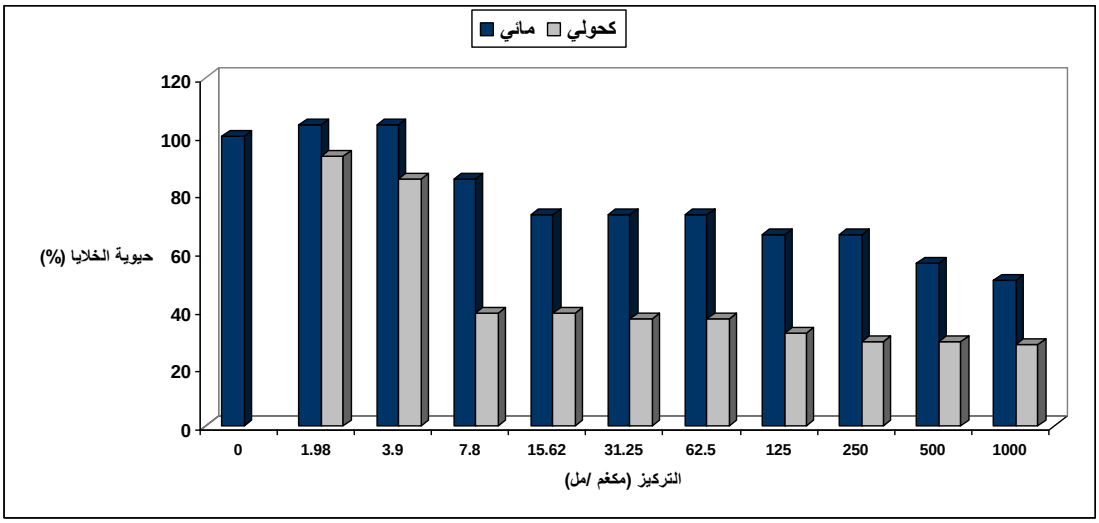
إستمر التأثير غير المعنوي عند المعاملة بمستخلصي الأوراق والأزهار المائية بعد (72) ساعة بالرغم من حصول انخفاض في حيوية خلايا (REF) ، في حين كان التأثير السمي الذي سببه مستخلص البذور المائي معنوياً ($P<0.05$) عند التركيزين (500 , 1000) مكغم/مل ، فقد بلغت حيوية الخلايا (56 , 50) % على التوالي أي بنسبة تثبيط نمو مقدارها (44 , 50) % .

أما فيما يخص المعاملة بالمستخلصات الكحولية ، فانها كانت أكثر سمّية بعد التعريض لمدة (72) ساعة وبالنسبة لأنواع المستخلصات الثلاثة ، فقد ظهر التأثير المعنوي عند التركيز (62.5) مكغم/مل والذي تمثل بإنخفاض حيوية الخلايا الى (56 %) عند استخدام مستخلص الأوراق ويستمر ارتفاع التأثير السمي طردياً مع إرتفاع التركيز .

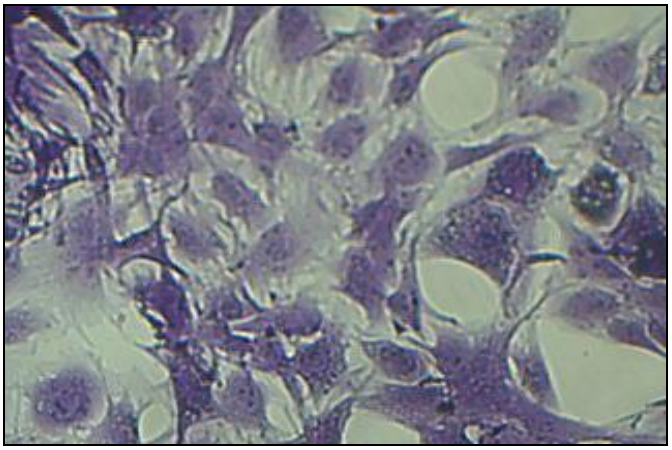
كذلك كان الحال عند المعاملة بمستخلصي الأزهار والبذور ، لكن كان ظهور التأثير السمي المعنوي عند التركيز (3.9) مكغم/مل بالنسبة للأول والتركيز (7.8) مكغم/مل للثاني ، إذ إنخفضت حيوية الخلايا الى (56 ، 39) % على الترتيب ، والشكل (11/ أ ، ب ، ج) يوضح التأثير السمي الذي سببته المعاملة بمستخلصات نبات عين البزون في خلايا REF بعد (72) ساعة من التعريض ، والصورة (4) توضح الفرق بين خلايا REF في معاملة السيطرة مقارنةً مع المعاملة بمستخلصات نبات عين البزون .



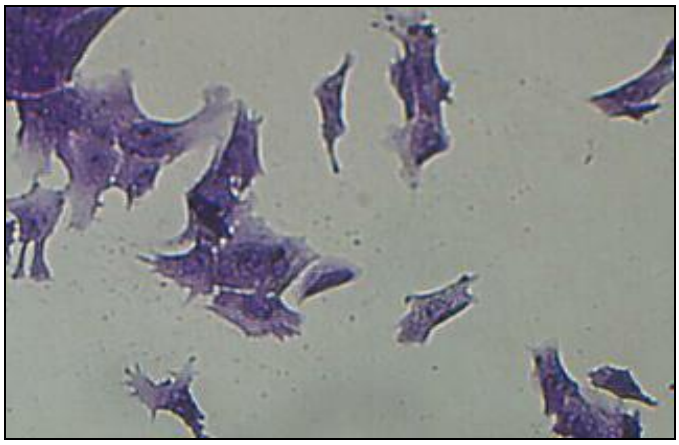


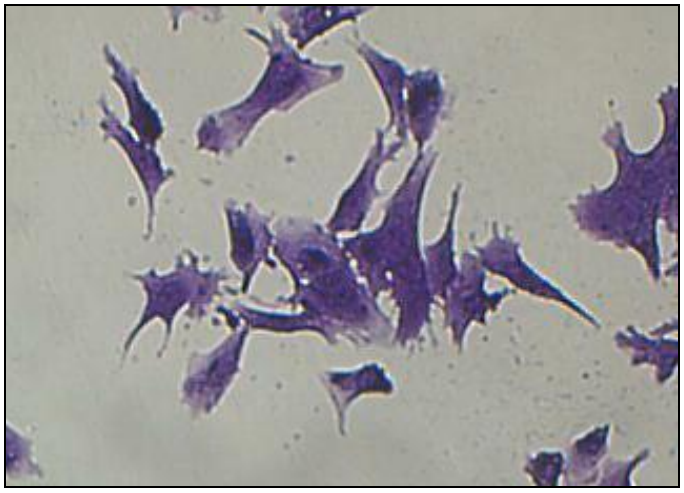


الشكل (11) تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات عين البزون في النسبة المئوية لحيوية خلايا الجرذ الجنينية (REF) بعد (72)ساعة من التعريض



(





الصورة (4) مقارنة بين خلايا REF في معاملة السيطرة (غير المعاملة) مع أخرى تمت معاملتها بالمستخلصات الخام لنبات عين البزون ، عند التركيز (1000) مكغم/مل بعد 72 ساعة من التعريض (crystal violet, 400 X)

4-3-4 دراسة مقارنة التأثير السمّي بين أنواع الخلايا المدروسة بتأثير مستخلصات نبات عين البزون

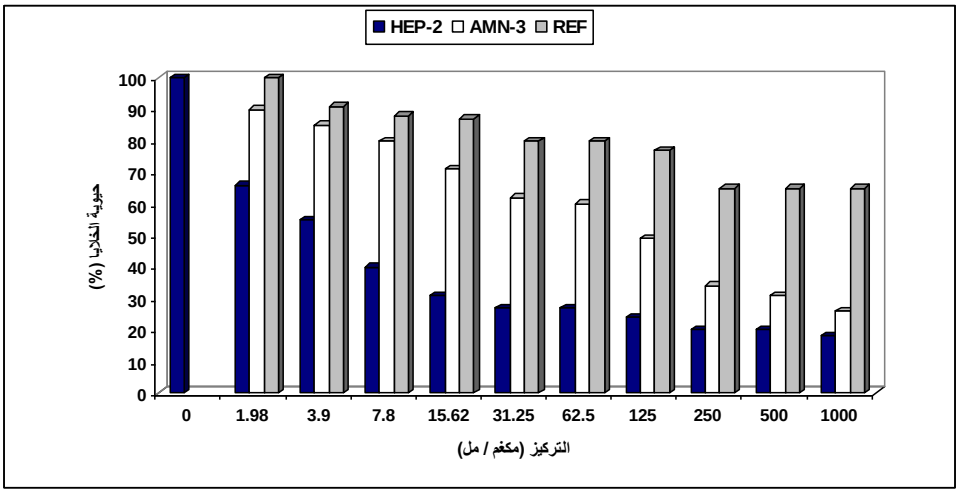
4-3-4-1 المستخلصات المائية (أوراق ، أزهار ، بذور)

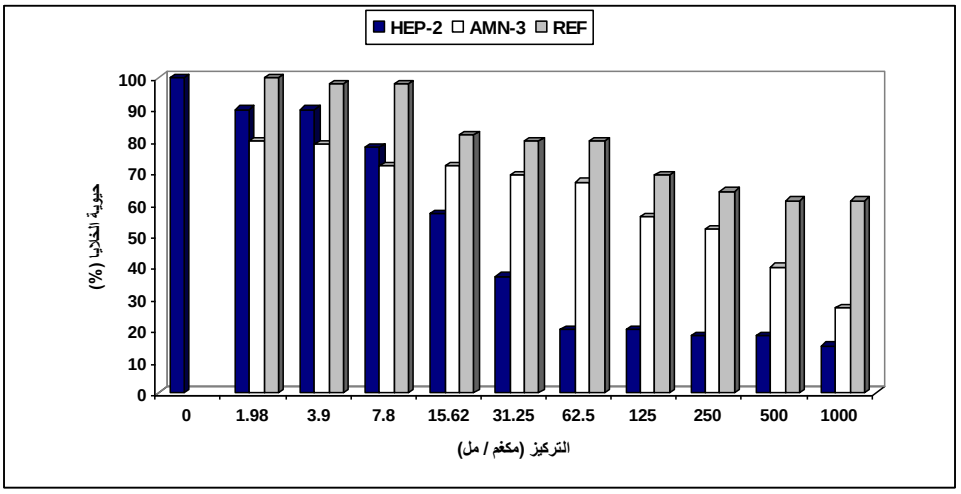
عند مقارنة النسبة المئوية لحيوية الخلايا قيد الدراسة ، وجد أن خلايا سرطان الحنجرة حساسة لمستخلص الاوراق المائي مقارنةً بخلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري وخلايا جنين الجرذ ، فقد بلغت حيوية الخلايا (55 %) عند التركيز (3.9) مكغم/مل ، ثم تنخفض وبصورة طردية مع إرتفاع التركيز حتى تصل (18 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل اي بنسبة تثبيط نمو مقدارها (82 %) ، وكان هذا الانخفاض معنوياً مقارنةً بمعاملة السيطرة .

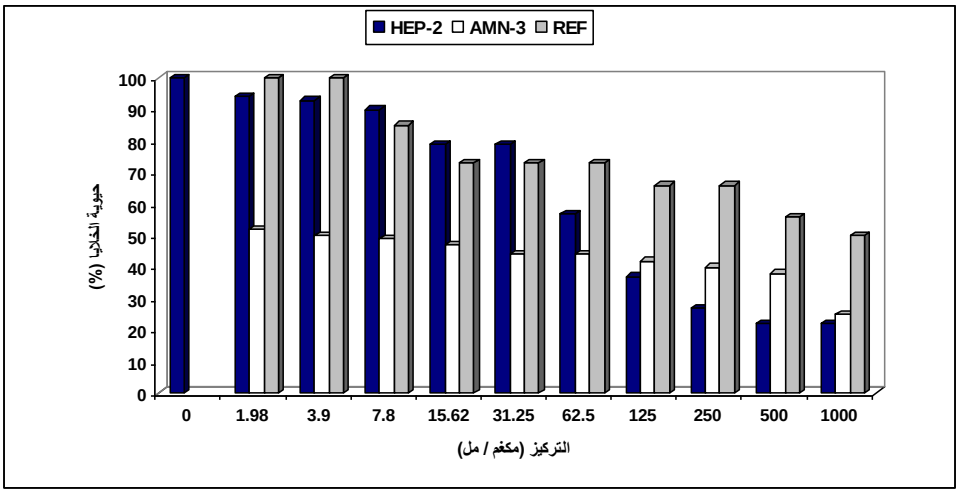
أما خلايا AMN-3 فلم يبدأ إنخفاض الحيوية المعنوي فيها إلا عند التركيز (125) مكغم/مل وقد بلغ (49 %) . في حين كانت خلايا REF مقاومة لتأثير المستخلص المذكور ، الشكل (12 / أ) .

لم يختلف التأثير التثبيطي الذي سبّبه مستخلص الأزهار المائي عن تأثير مستخلص الأوراق في إطاره العام ، فقد كانت خلايا Hep-2 هي الأكثر حساسية له بالمقارنة مع النوعين الآخرين ، وبقيت خلايا REF مقاومة ، الشكل (12 / ب) .

أما عند المعاملة بمستخلص البذور فقد كانت خلايا AMN-3 حساسة بدرجة كبيرة ، فقد بلغت حيوية الخلايا (52 %) باستخدام أوطأ التراكيز (1.98) مكغم/مل ، ويستمر التأثير التثبيطي المعنوي بالارتفاع مع زيادة التركيز ليصل إلى (75 %) ، أي كانت حيوية الخلايا (25 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل ، في حين لم يظهر التأثير التثبيطي المعنوي لخلايا Hep-2 إلا عند التركيز (62.5)مكغم/مل ، والتركيز (500) مكغم/مل لخلايا REF ، الشكل (12 / ج) .







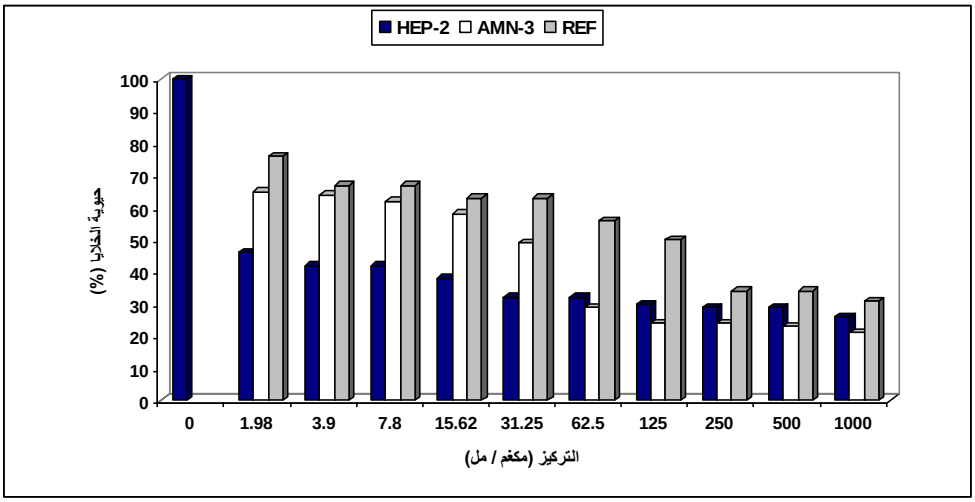
الشكل (12) مقارنة التأثير السمي لمستخلصات نبات عين البزون المائية في أنواع خطوط الخلايا المدروسة (REF , AMN-3 , Hep-2) .

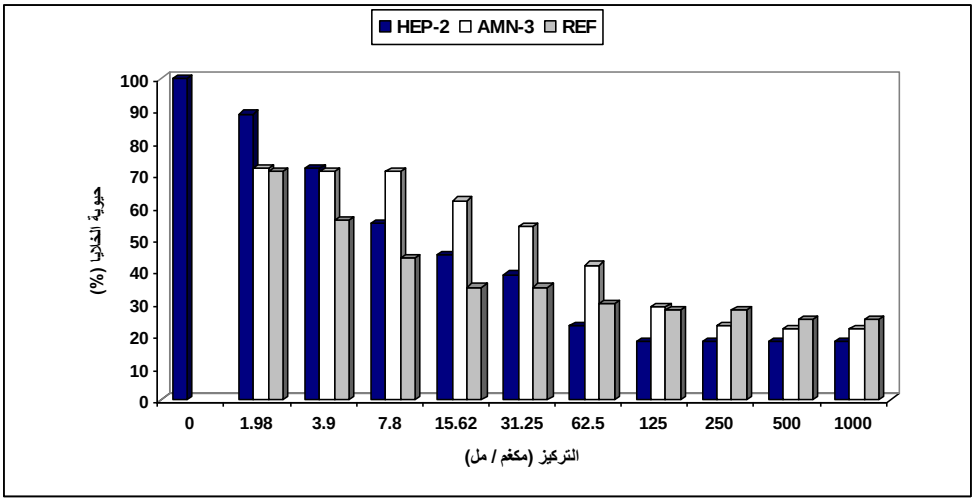
2-4-3-4 المستخلصات الكحولية (أوراق ، أزهار ، بذور)

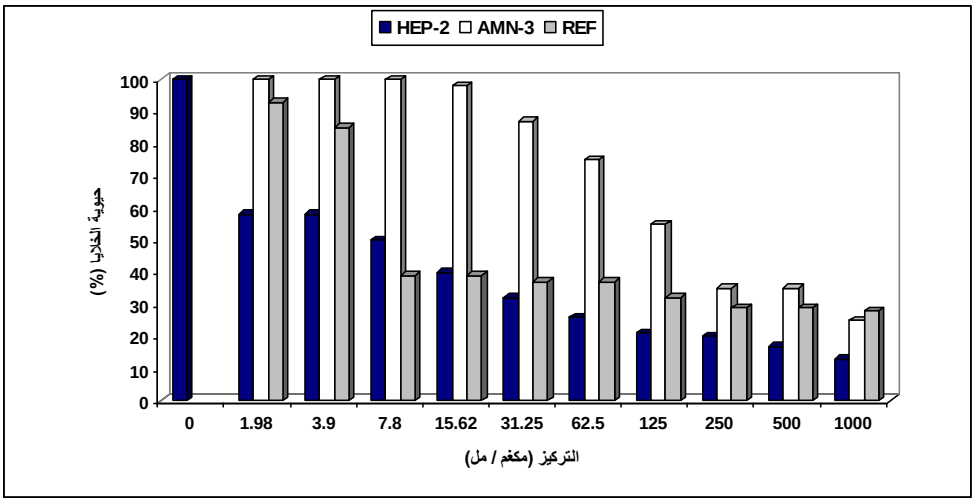
يشير الشكل (13/ أ ، ب ، ج) إلى مقارنة حساسية الخلايا قيد الدراسة لأنواع المستخلصات الكحولية الثلاثة ، فكما كانت خلايا Hep-2 هي الأكثر حساسيةً لمستخلص الأوراق المائي ، فإنها أيضاً هي الحساسة للمستخلص الكحولي ، فقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي أن هناك انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في حيوية الخلايا بدأ مع أقل التراكيز المستعملة (1.98 مكغم/مل) ، وقد بلغ 46 % (نسبة تثبيط النمو 54 %) ، وهناك علاقة طردية بينهما ، إذ تزداد نسبة تثبيط النمو مع إرتفاع التركيز حتى تصل (74 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل .

لقد كانت خلايا AMN-3 أقل حساسيةً إذ لم يبدأ تأثرها السمّي المعنوي إلا عند التركيز (15.62) مكغم/مل ، أما خلايا REF فعند التركيز (62.5) مكغم/مل .

فيما يخص استجابة الخلايا تجاه مستخلص الأزهار الكحولي ، فوجد أن خلايا Hep-2 هي الاكثر تحسساً أيضاً ثم الـ REF وأقلها الـ AMN-3 . في حين عادت خلايا Hep-2 لتعطي أقل نسبة مئوية في نمو خلاياها ، وعند أوطأ التراكيز عند المعاملة بمستخلص البذور ثم الـ REF وأخيراً AMN-3 .







الشكل (13) مقارنة التأثير السمي لمستخلصات عين البزون الكحولية في أنواع خطوط الخلايا المدروسة (REF , AMN-3 , Hep-2) .

4-4 تأثير مستخلصات نبات عين البزون في الخلايا اللمفاوية للاشخاص الاصحاء

4-4-1 التأثيرات السمية لمستخلصات نبات عين البزون في الخلايا اللمفاوية المحفزة على الانقسام بمادة PHA

4-4-1-1 المستخلصات المائية (أوراق ، أزهار ، بذور)

4-4-1-1-1 معامل التحول الأرومي (BI)

أدت معاملة الخلايا اللمفاوية بمستخلص أوراق نبات عين البزون المائي الى حدوث إنخفاض معنوي في قدرة تلك الخلايا على التحول الى أرومات لمفاوية عند إستعمال التركيزين (62.5 ، 125) مكغم /مل مقارنةً بمعاملة السيطرة , في حين لم تظهر تأثيرات سمية عند إستعمال التراكيز الأعلى . اما مستخلص الأزهار فإنه قلل من قيمة الـ(BI) في جميع التراكيز المستعملة وبصورة

معنوية ($P<0.05$) مقارنة بالسيطرة ، فضلاًعن وجود الفروقات بين بعض التراكيز . والتأثيرات نفسها تم الحصول عليها عند دراسة مستخلص البذور ، وكما هو مبين في الجدول (4-3) .

أما المقارنات الأفقية بين أنواع المستخلصات في كل تركيز مستعمل ، فيلحظ ظهور فروق معنوية فيها ، ويعدّ مستخلص الأزهار أكثرها سميةً مقارنةً بالنوعين الآخرين [جدول(4-3)] .

4-4-1-1-2 معامل الانقسام الخيطي (MI)

أظهرت النتائج الموضحة في جدول (4-4) أن مستخلصات نبات عين البزون تمتلك تأثيراً في معامل الانقسام الخيطي بصورة عامة ، وقد أعتمد التأثير على نوع المستخلص وتركيزه .

تشير النتائج إلى أن التراكيز الواطئة من مستخلص الأوراق المائي لم تسبب تأثيراً معنوياً ($P>0.05$) مقارنةً بمعاملة السيطرة ، في حين كان الإرتفاع الحاصل في قيمة معامل الإنقسام الخيطي معنوياً ($P<0.05$) عند التراكيز (250 ، 500 ، 1000) مكغم/مل , فقد بلغ (4.9 , 5.1 ,5.7) % مقارنةً بالسيطرة التي سجلت (2.73 %) .

إن النتائج نفسها تم الحصول عليها عند المعاملة بمستخلص الأزهار فقد كانت الزيادة في معامل الإنقسام ذات معنوية عالية ، فقد بلغت (5.29 , 7.19 , 7.52) % للتراكيز (250 , 500 , 1000) مكغم/مل على الترتيب مقارنةً بالسيطرة (2.73 %) ، وعلى العكس من مستخلصي الأوراق والأزهار فان المعاملة بمستخلص البذور لم تسبب أي تأثير على معامل الانقسام بالرغم من ارتفاع قيمته وانخفاضها حسب التركيز المستعمل ، فقد أكدت التحليلات الإحصائية أن الفروق غير معنوية ($P>0.05$) عند المقارنة بين معاملة السيطرة والتراكيز المستعملة من جانب ، وفيما بين التراكيز نفسها من جانب آخر .

الجدول (4-3) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء .

التركيز مكغم/مل	معامل التحول الأرومي (المعدل ± الخطأ القياسي)		
	أوراق	أزهار	بذور
0	40.5 ± 1.39 a	40.5 ± 1.39 a	40.5 ± 1.39 a
62.5	30 ± 1.25 b A	34.2 ± .261 b A	23.4 ± 1.06 b B
125	34.6 ± 1.48 b A	32.1 ± 0.54 cb A	30.5 ± 1.52 c A
250	40.5 ± 0.95 a A	28.3 ± 1.29 c B	37.5 ± 0.97 a A
500	40.6 ± 2.46 a A	21 ± 0.66 d B	30.9 ± 0.81 c C
1000	42.6 ± 1.43 a A	22.5 ± 0.49 d B	22.9 ± 0.42 b B

- ❖ الأحرف الإنكليزية الصغيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود .
- ❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين أنواع المستخلصات لكل صف بتأثير تركيز المستخلص المستعمل .

الجدول (4-4) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في معامل الإنقسام الخيطي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء .

التركيز مكغم/مل	معامل الإنقسام الخيطي (المعدل ± الخطأ القياسي)		
	أوراق	أزهار	بذور
0	0.23± 2.73 a	0.23± 2.73 a	0.23± 2.73 a
62.5	0.14± 3.5 a A	0.22± 3.5 a A	0.26± 2.43 a A
125	0.11 ± 3.84 a A	0.18 ± 4.06 a A	0.14 ± 3.53 a A
250	0.04± 5.7 b A	0.12± 5.29 b A	0.24 ± 3.6 a B
500	0.13± 5.1 b A	0.07 ± 7.19 c B	0.08 ± 3.6 a C
1000	0.12 ± 4.9 b A	0.45± 7.52 c B	0.16 ± 3.9 a A

- ❖ الأحرف الإنكليزية الصغيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود .
- ❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين أنواع المستخلصات لكل صف بتأثير تركيز المستخلص المستعمل .

4-4-1-2 المستخلصات الكحولية (أوراق ، أزهار ، بذور)

4-4-1-2-1 معامل التحول الأرومي (BI)

وجد من خلال النتائج التي تم الحصول عليها ، ان مستخلص الأوراق الكحولي قد رفع من قيمة معامل التحول الأرومي أي انه حفّز الخلايا اللمفاوية على التحول الى أرومات لمفاوية وبفروق معنوية (P<0.05) مقارنةً بالسيطرة . وعلى العكس من ذلك فقد سبب مستخلصا الأزهار والبذور إنخفاضاً في قيمة هذا المعامل وبفروق معنوية ، لاسيما الأزهارالتي كان الإنخفاض معنوياً عند جميع التراكيز المستعملة منها . من جانب آخر وجدت فروق معنوية بين أنواع المستخلصات الثلاثة عند كل تركيز مستعمل [الجدول (4-5)] .

4-4-1-2-2 معامل الإنقسام الخيطي (MI)

يبين الجدول (4–6) تأثير مستخلصات نبات عين البزون الكحولية في معامل إنقسام الخلايا اللمفاوية ، ويلحظ بصورة عامة أن هناك إرتفاعاً في قيمة معامل الإنقسام ولإنواع المستخلصات المستخدمة كافة ، فقد رفع مستخلص الأوراق قيمة معامل الإنقسام إلى (6.7 %) عند التركيز (500) مكغم/مل وبصورة معنوية ($P<0.05$) مقارنةً بالسيطرة التي بلغت (2.23 %) . أما الأزهار فسجلت أعلى قيمة له عند التركيز (62.5) مكغم/مل وقد بلغت (7.1 %) ، في حين سجل مستخلص البذور أعلى قيمة لمعامل الأنقسام عند التركيز (1000) مكغم/مل مقارنةً بالتراكيز الأخرى للمستخلص نفسه ، وكذلك مقارنةً بنوعي المستخلصين الآخرين وقد بلغت (10.6 %) .

الجدول (4–5) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء .

التركيز	معامل التحول الأرومي (المعدل ± الخطأ القياسي)		
مكغم/مل	أوراق	أزهار	بذور
0	1.29 ± 46.4 a	1.29 ± 46.4 a	1.29± 46.4 a
62.5	1.09± 61.3 e A	1.27 ± 23.9 bf B	2.14 ± 44.2 a C
125	1.29 ± 66 c A	0.68 ± 28.1 de B	1.74± 47.1 a C
250	0.70± 62.3 eb A	1.07 ± 25.3 cef B	0.97 ± 30.7 bc C
500	0.73± 67.3 c A	0.59± 21.5 bc B	1.79 ± 36 c C
1000	1.09± 62.6 eb A	0.79± 20.9 b B	1.69± 28.5 b C

- ❖ الأحرف الإنكليزية الصغيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) /المقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود .
- ❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) /المقارنة بين أنواع المستخلصات لكل صف بتأثير تركيز المستخلص المستعمل .

الجدول (4-6) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في معامل الإنقسام الخيطي للخلايا اللمفاوية في دم الأشخاص الأصحاء .

التركيز مكغم/مل	معامل الإنقسام الخيطي (المعدل ± الخطأ القياسي)		
	أوراق	أزهار	بذور
0	0.18 ± 2.23 a	0.18 ± 2.23 a	0.18 ± 2.23 a
62.5	0.63± 4.6 bc A	0.48± 7.1 b B	0.17 ± 1.08 a A
125	o.36 ± 5.8 be A	0.37 ± 4.9 c A	0.21± 5.2 b A
250	0.30 ± 3.8 ac A	0.31± 3.8 c A	0.20 ± 5.5 b B
500	0.61 ± 6.7 e A	0.25 ± 1.5 ad B	0.63 ± 8.2 c A
1000	0.72 ± 6.06 be A	0.40 ± 0.6 d B	0.64 ±10.6 d C

- ❖ الأحرف الإنكليزية الصغيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود .
- ❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين أنواع المستخلصات لكل صف بتأثير تركيز المستخلص المستعمل .

3-1-4-4 دراسة مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية

أشارت النتائج الى وجود فروق معنوية في قيم معامل التحول الأرومي عند المقارنة بين المستخلصين المائي والكحولي للأوراق ، فقد إرتفعت وبصورة كبيرة عند إستخدام المستخلص الكحولي مقارنةً بالمائي ، الشكل (14/أ) .

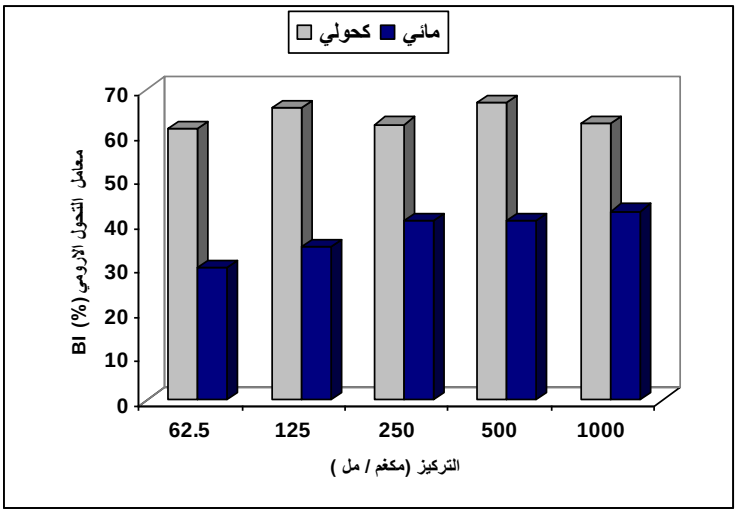
أما في حالة استخدام مستخلص الأزهار فكانت النسب متقاربة ولم تظهر الفروق إلا عند التركيز الواطئ (62.5) مكغم/مل ، فقد بلغت قيمة هذا المعامل للكحولي (23.9 %) ، في حين سجل المائي (34.2 %) ، الشكل (14/ب) .

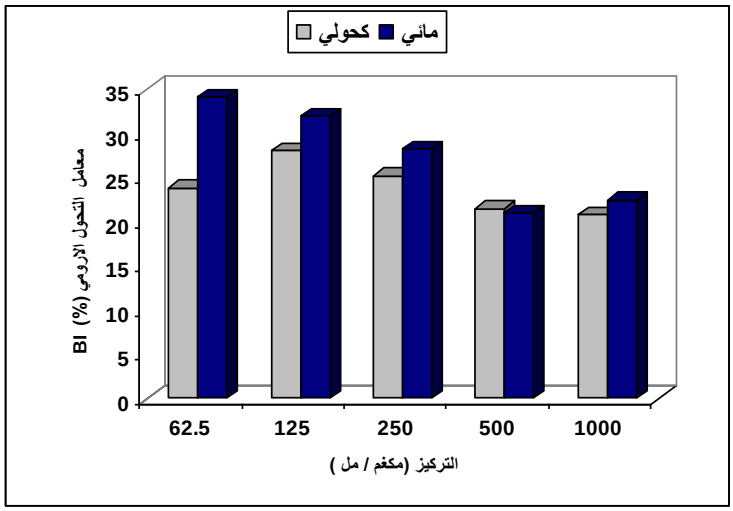
من جانب آخر فقد اختلفت القيم وقدرة الخلايا اللمفاوية في التحول إلى أرومات بتأثير المستخلصين المائي والكحولي للبذور وأعتمد هذا الاختلاف على التركيز المستخدم ، ففي التراكيز جميعها ، أعطى الكحولي منها معامل تحول أرومي أعلى من المستخلص المائي فيما عدا التركيز (250) مكغم/مل الذي كان عنده التأثير بصورة معاكسة ، الشكل (14/ج) .

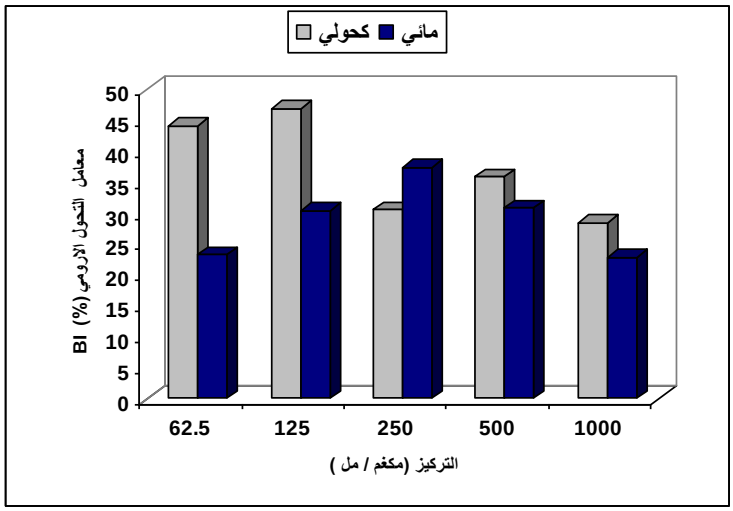
4-4-1-4 دراسة مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في معامل إنقسام الخلايا اللمفاوية

أظهرت النتائج الموضحة في الشكل (15/ أ) ، أن هناك تبايناً في قيمة معامل إنقسام الخلايا اللمفاوية عند المقارنة بين تأثير المستخلص المائي والكحولي للأوراق وحسب التركيز المستعمل . أما عند إستعمال مستخلصات الأزهار ، فإن التركيز (62.5) مكغم/مل من المستخلص الكحولي أعطى نسبة إنقسام مرتفعة مقارنةً بمثيله المائي ، أما عند التراكيز التالية المرتفعة فإن معامل الإنقسام بدأ بالإنخفاض تدريجياً مع إرتفاع التركيز حتى بلغ (0.6 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل ، في حين إزداد معامل الإنقسام وبصورة كبيرة عند المعاملة بالمستخلص المائي ، وكانت الزيادة طردية مع إرتفاع التركيز ، فقد بلغ معامل الإنقسام (7.52 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل ، الشكل (15/ب) .

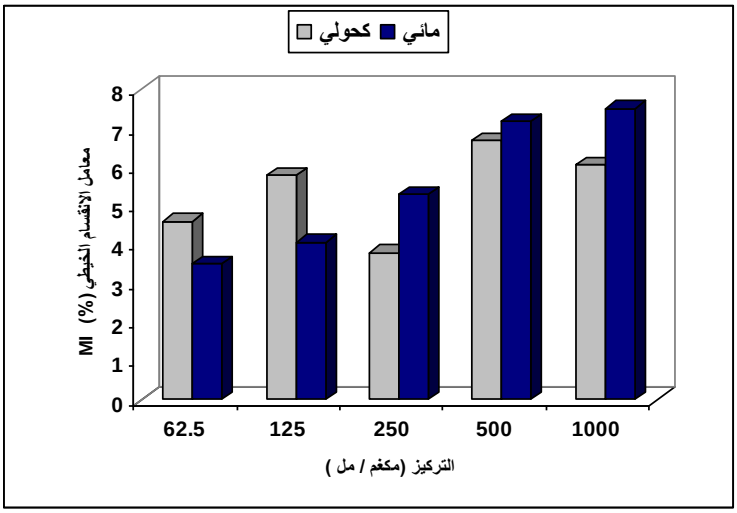
وعلى العكس من الأزهار ، وجدت البذور ، فإن المستخلص الكحولي أعطى نسبة مرتفعة من الإنقسام ، ازدادت بصورة واضحة جداً مع زيادة التركيز مقارنةً بالمائي التي كانت واطئة ، الشكل (15/ج) .

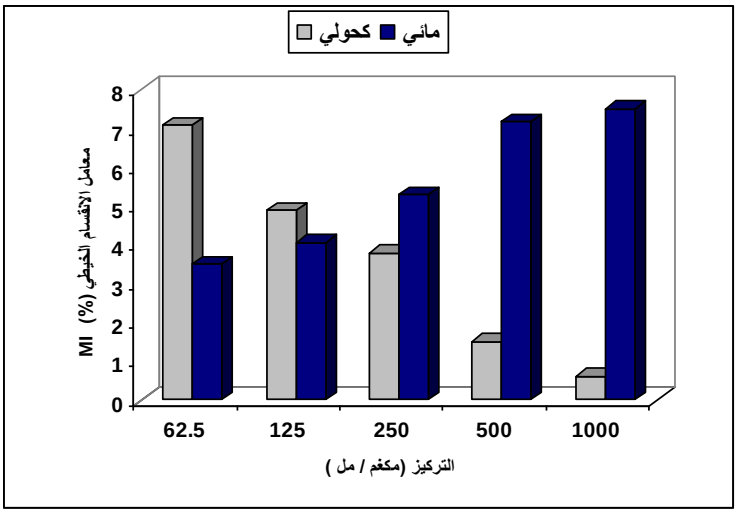


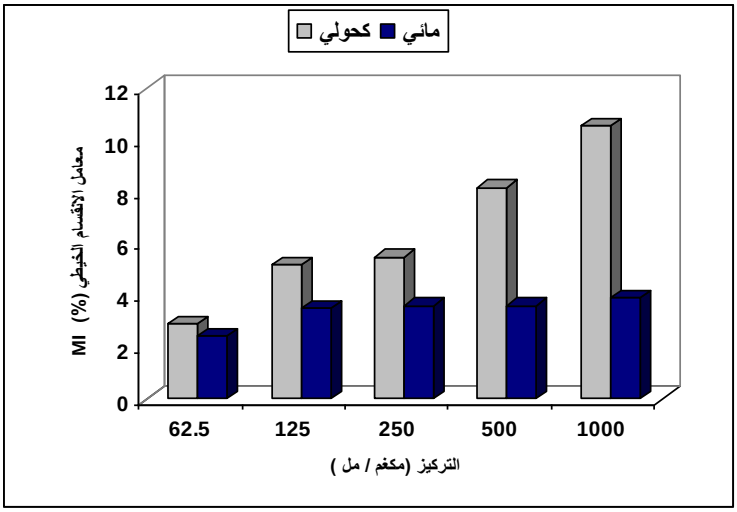




الشكل (14) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في معامل التحول الأرومي للخلايا اللمفاوية .







الشكل (15) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في معامل إنقسام الخلايا اللمفاوية .

4-4-2 تأثير مستخلصات نبات عين البزون في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي

4-4-2-1 المستخلصات المائية (أوراق ، أزهار ، بذور)

تمثل النتائج الواردة في جدول (4–7) قيم معاملات الإنقسام الخيطي الناتجة عن المعاملة بالمستخلصات المائية الثلاثة عند الساعة (71.5) من فترة الحضانة الكلية البالغة (72) ساعة بدلاً من الكولسمايد لغرض إيقاف إنقسامها في الطور الإستوائي .

دلت النتائج إلى أن مستخلصي الأزهار والبذور قد عملا على إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي ، إذ لم تقل كفاءة عملهما عن السيطرة التي تمت معاملتها بمادة الكولسمايد وهذا ما

أكدته نتائج التحليل الإحصائي ، إذ لم تظهر فروق معنوية (P>0.05) تُذكر عند المقارنة ما بين المعاملات المختلفة لكل نوع منها وبين معاملة السيطرة .

أما بالنسبة لمستخلص الأوراق فإن كفاءته قد فاقت الكولسمايد ، إذ عمل على رفع قيمة معامل الإنقسام (أي زيادة عدد الخلايا المتوقعة في الطور الاستوائي) بصورة كبيرة ومعنوية (P<0.05) مقارنة بالسيطرة التي بلغت (2.73 %) ، وكانت الزيادة الحاصلة بقيمة معامل الإنقسام تتناسب طردياً مع إرتفاع التركيز ، فقد بلغ (5.3 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل . من جانب آخر ظهرت فروقات فيما بين مستخلصي الأوراق والأزهار من جهة ، والأوراق والبذور من جهة أخرى ، في حين لم توجد بين الأزهار والبذور عند المقارنة بكل تركيز مستعمل ، شكل (16) .

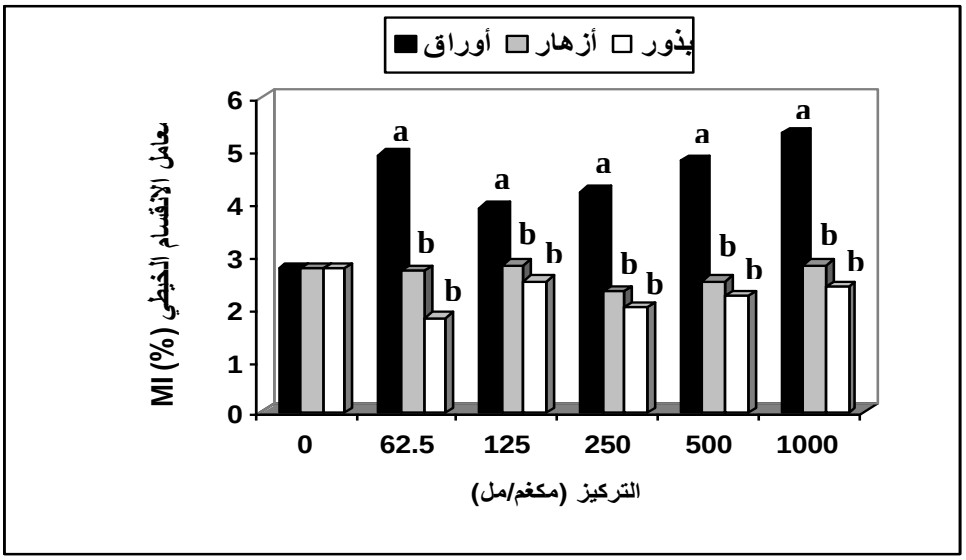
الجدول (4–7) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي في دم الأشخاص الأصحاء .

التركيز	معامل الإنقسام الخيطي (المعدل ±الخطأ القياسي)		
مكغم/مل	أوراق	أزهار	بذور
0	0.23± 2.73 a	0.23± 2.73 a	0.23 ± 2.73 a
62.5	0.42± 4.9 bc A	0.26± 2.7 a B	0.16 ± 1.8 a B
125	0.09 ± 3.9 c A	0.11 ± 2.8 a AB	0.40 ± 2.5 a B
250	0.16 ± 4.2 c A	0.27 ± 2.3 a B	0.12 ± 2 a B
500	0.42 ± 4.8	0.35 ± 2.5	0.14± 2.2

1000	0.15 ± 5.3 b A	0.15 ± 2.8 a B	0.31 ± 2.4 a B
	bc A	a B	a B

❖ الإنكليزية الصغيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود .

❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05)/ المقارنة بين أنواع المستخلصات لكل صف بتأثير تركيز المستخلص المستعمل .



الشكل (16) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) المائية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي .

❖ الأحرف الإنكليزية المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين أنواع المستخلصات عند كل تركيز مستعمل .

4-4-2-2 المستخلصات الكحولية (أوراق ، أزهار ، بذور)

بينت النتائج أن هناك تبايناً في قدرة كل من مستخلصي الأزهار والبذور الكحولية على إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي إعتمد بصورة أساس على التركيز المستعمل ، فعند إستعمال مستخلص البذور لم تظهر هناك فروق معنوية بقيمة معامل الإنقسام عند المقارنة مع معاملة السيطرة ، في حين ظهرت فيما بين التراكيز نفسها . أما الأزهار ، فإن التركيز (62.5) مكغم/مل رفع قيمة معامل الإنقسام بصورة معنوية ، في حين سببّ التركيز (500) مكغم/مل إنخفاضاً معنوياً بتلك القيمة مقارنةً بالسيطرة .

أما الأوراق فإنها كانت هي الأكفأ أيضاً ، فقد عمل مستخلصها الكحولي على زيادة أعداد الخلايا التي توقفت في الطور الإستوائي نتيجة المعاملة به ، فقد كانت الفروق معنوية بقيم معامل الإنقسام

مقارنةً بالسيطرة وتزداد طردياً مع إرتفاع التركيز ، فبلغت (6.2 %) عند التركيز (1000) مكغم/مل ، فضلاًعن وجود بعض الفروق بين بعض التراكيز فيما بينها ، جدول (4–8).

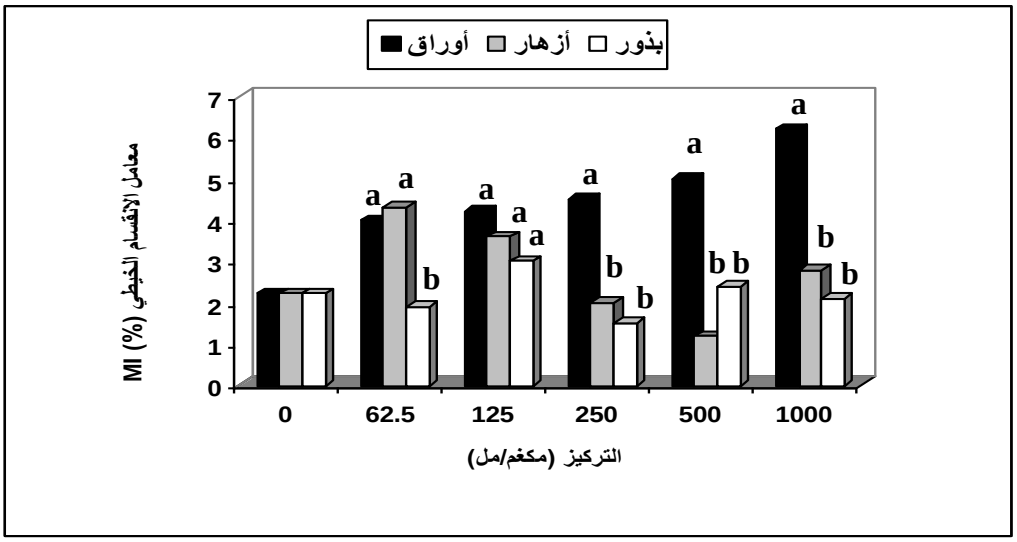
أما المقارنات الأفقية بين أنواع المستخلصات عند كل تركيز مستعمل ، فأكدت عدم وجود فروق بين مستخلصي الأزهار والبذور بينما ظهرت عند المقارنة مع الأوراق لاسيما عند التراكيز الثلاثة الأخيرة ، وكما موضح في الشكل (17) .

الجدول (4–8) تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الاستوائي في دم الأشخاص الأصحاء .

التركيز	معامل الإنقسام الخيطي (المعدل ± الخطأ القياسي)		
مكغم/مل	أوراق	أزهار	بذور
0	0.19 ± 2.23 a	0.19± 2.23 ae	0.19± 2.23 ae
62.5	0.39± 4 ac A	0.06 ± 4.31 cf A	0.26± 1.9 e B
125	0.39± 4.2 c A	0.39 ± 3.6 ef A	0.10 ± 3 a A
250	0.23± 4.5 c A	0.09 ± 2 ab B	0.14± 1.5 be B
500	0.36± 5 cb A	0.12 ± 1.2 b B	0.44 ± 2.4 ae B

1000	0.43 ± 6.2 b A	0.08± 2.8 ae B	0.06 ± 2.1 ae B

- ❖ الأحرف الإنكليزية الصغيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين المعاملات المختلفة لكل عمود .
- ❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05)/ المقارنة بين أنواع المستخلصات لكل صف بتأثير تركيز المستخلص المستعمل .



الشكل (17) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) الكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي .

- ❖ الأحرف الإنكليزية الكبيرة المتشابهة دلالة على عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) / المقارنة بين أنواع المستخلصات عند كل تركيز مستعمل .

3-2-4-4 دراسة مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي

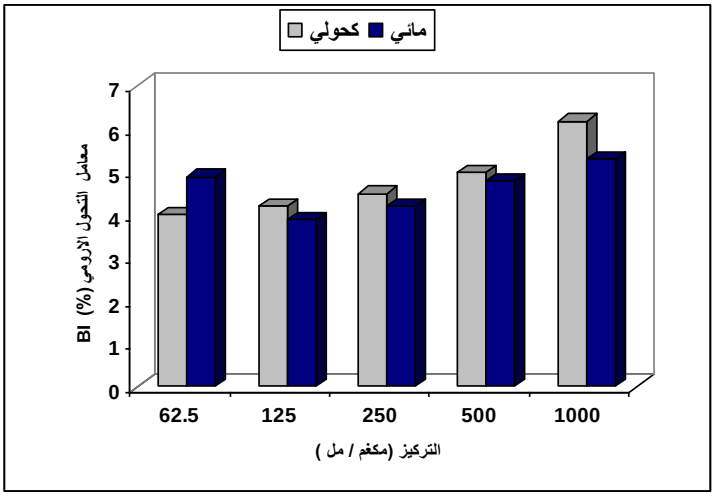
لم تظهر هناك فروق معنوية بين نوعي المستخلصين المائي والكحولي لكل نوع من التحضيرات في كفاءة العمل على إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي ، سوى البعض منها عند بعض التراكيز .

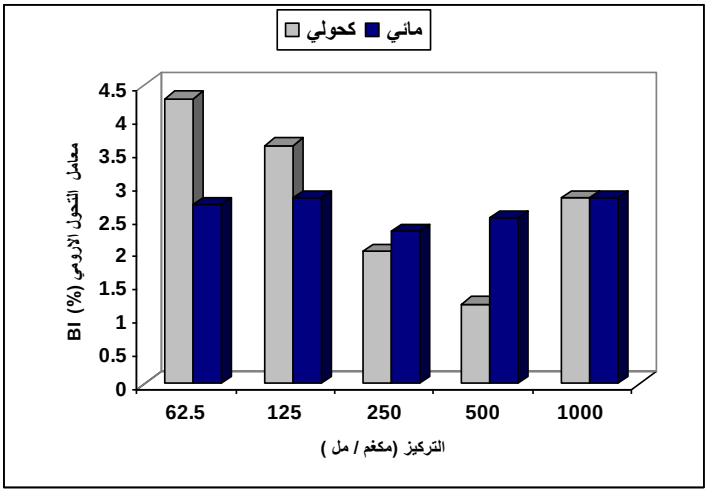
يوضح الشكل (18/أ) عمل مستخلص الأوراق والذي يلحظ فيه قيم معامل الإنقسام المرتفعة، لكنها متقاربة بين النوعين عند كل تركيز مستعمل . وفيما يخص الأزهار فظهر المستخلص الكحولي بكفاءة أفضل في العمل عند التركيز (62.5) مكغم/مل فقط ، فقد بلغ معامل الإنقسام (4.31 %) ، مقارنة بمستخلصها المائي الذي سجل (2.7 %) عند التركيز نفسه ، أما باقي المعاملات فلم توجد فروق بينها. والنتائج نفسها تم الحصول عليها عند دراسة نوعي المستخلصين بالنسبة للبذور ، إذ لم

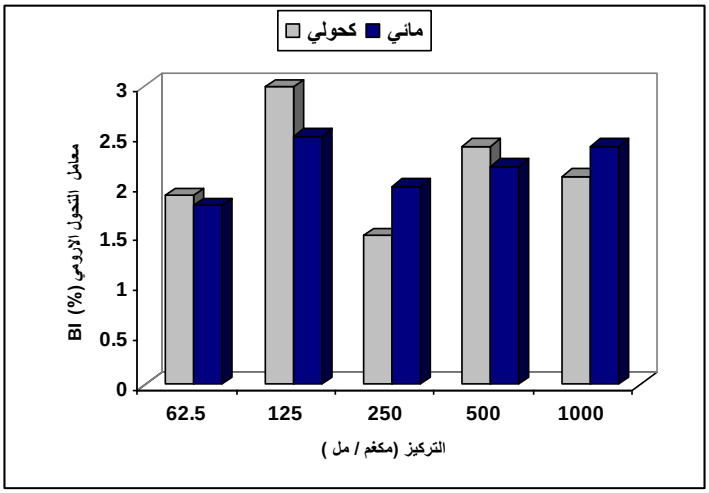
تظهر فروق عند المقارنة بينهما فيما يخص قدرتهما على حصد الخلايا في الطور الإستوائي ، الشكل (18/ب،ج) يوضح قيم معامل الإنقسام لمستخلصي الأزهار والبذور على التوالي .

3-4-4 دراسة إستخدام المستخلصات الخام للنبات كمادة مُشَطِّرة للخلايا اللمفاوية

بينت النتائج التي تم التوصل اليها إن مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية للأجزاء النباتية الثلاثة (أوراق ، أزهار ، بذور) وبالتراكيز (1000,500,250,125,62.5) مكغم/مل لم تحفز الخلايا اللمفاوية على الإنقسام كما تفعل مادة الـ PHA ، حيث لم يتم العثور على خلايا منقسمة في كل الحالات .







الشكل (18) مقارنة تأثير مستخلصات نبات عين البزون المائية والكحولية في إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي .

الفصل الخامس

المناقشة

المناقشـــة

نظراً لأهمية إيجاد مواد فاعلة ضد السرطان وإيجاد المزيد من أنواع النباتات التي تمتلك تلك المواد ، فقد تم إختيار نبات عين البزون *Vinca rosea* الذي يعد واحداً من النباتات الطبية المتوفرة محلياً والذي يمتلك خواص علاجية مختلفة ، وذلك للتعرف على تأثيرات المستخلصات الخام في أنواع من الخلايا السرطانية والطبيعية ومدى إمكانية إستخدام هذه المستخلصات كمواد علاجية طبية ضد السرطان مستقبلاً .

1-5 التأثيرات السمية لمستخلصات نبات عين البزون الخام في خطوط الخلايا السرطانية والخلايا الطبيعية

تم في هذه الدراسة التقصي عن دور وتأثير المستخلصات الخام لهذا النبات في نمو الخلايا السرطانية ، لإحتواء تلك المستخلصات على العديد من المركبات التي قد تساهم معاً بقتل الخلايا السرطانية بفعالية أفضل نتيجة العمل التآزري فيما بينها مما قد يقلل من سمية المركبات النقية المستعملة ، ومن خلال ذلك وُجد أن تلك المستخلصات الخام لعبت دوراً فعالاً في قتل الخلايا السرطانية وتثبيط نموها وإنقسامها خارج الجسم الحي إذ أشارت نتائج الدراسة أن التأثير السمي للمستخلصات الخام (المائية والكحولية) لنبات عين البزون في خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) ، وسرطان الغدد اللبنية ألفأري (AMN-3) ، وخلايا جنين الجرذ الطبيعية (REF) . أعتمد هذا التأثير بصورة أساس على التركيز المستخدم ومدة التعريض ، ونوع المستخلص المحضّر ، ونوع الخلايا المعرّضة خارج الجسم الحي .

عززت نتائج هذه الدراسة ما توصل إليه العديد من الباحثين في دراسات محلية حول إمتلاك المستخلصات النباتية فعالية مضادة للخلايا السرطانية ، وتعتمد هذه الفعالية بشكل أساس على التركيز المستخدم من هذه المركبات ومدة التعريض ونوع المستخلص ومدى حساسية الخلايا السرطانية . فقد توصل العتابي،(2001) إلى أن مستخلص نبات سم الفراخ يمتلك تأثيراً سمياً مثبطاً لنمو سرطان الخلية البلازمية SU-99 إذ يعزى ذلك التأثير لمركبات الوذافرين المثبطة لانقسام الخلايا في طورها الإستوائي .

وجاءت نتائج الباحثتين اليعقوبي، (2005) و Al-Qadoori,(2004) لتؤكد إمتلاك مستخلصات نباتَيّ الحرمل والهيل فعالية مثبطة لنمو سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) وخلايا سرطان العضلات البشري (RD) . ، والنتائج نفسها توصل إليها Sa`eed,(2004) عند إختباره تأثير مستخلصات الشاي الأخضر والأسود في الخلايا السرطانية نفسها ، إذ وجد أن مستخلص الشاي الأخضر أكثر كفاءة في تثبيط نمو الخلايا مقارنة بالشاي الأسود . ولم يختلف مستخلص نبات الشيح في عمله عن الأنواع الأخرى ، بل ساهم في دعم نتائج مَن سبقه وتشجيع إستمرار البحث في إمكانية إستخدام هذه المستخلصات النباتية الطبيعية بدلاً من العقاقير الكيميائية (Al-Dabhawi,2005) . . أما الباحثة الجنابي،(2004) فقد وجدت إن مزيج مستخلصي نباتي الثوم والحبة السوداء يمتلك فعالية كبيرة في قتل وتثبيط إنقسام الخلايا السرطانية لمرضى إبيّضاض الدم النخاعيني المزمن (CMI) ، فضلاً عن كون هذه المستخلصات تمتلك فعالية مضادة للتطفير ، إذ تقلل من السمية الوراثية الخلوية لعقار Methotrexate (MTX) .

تحتوي المستخلصات الخام لنبات عين البزون على نسبة مرتفعة من القلويدات، إذ تعد خزيناً لأكثر من 75 نوعاً منها (Mukherjee *et al.*,2001) ، فضلاً عن وجود التربينات والفينولات (Vaquez-Flota *et al.*,2004) والكثيرمن العناصر المعدنية (Sahito *et al.*,2001) . تتباين نسبة النواتج الأيضية الثانوية الموجودة في النبات تبعاً لنوع العضو النباتي (أوراق ، أزهار ، بذور) ، كما تتأثر هذه النسبة بألعوامل البيئية المحيطية ، (Vazques-Flota *et al.*,2004) .

إذ تعد القلويدات من أهم وأكثر المواد الفعالة الموجودة في تلك المستخلصات ، أما آلية عملها فتكون من خلال تثبيط عملية الإنقسام الخيطي ، لتبقى الخلايا في الطور الإستوائي Metaphase وذلك بوساطة منع بلمرة بروتين التيوبيولين Tubulin المسؤول عن تكوين خيوط المغزل (Ngan *et al.*,2001 ; Pourroy *et al.*,2004) . فضلاً عن ذلك تعمل القلويدات على تثبيط بناء الأحماض النووية خارج الجسم الحي (Medinger *et al.*,2003) .

كما أشارت العديد من الدراسات السابقة التي قام بها الباحثون الى إمتلاك قلويدات عين البزون فعالية ضد الخلايا السرطانية ، ومنها خلايا سرطان عنق الرحم البشري Hela cells ، إذ تسبب التراكيز الواطئة منها تثبيط عمل خيوط المغزل (Jordan *et al.*,1991) .

من جانب آخر أكد الباحثان (Parekh and Simpkins, 1996) إن هذه القلويدات تؤثر في خطوط الخلايا اللمفاوية السرطانية للجرذ وفي خطوط خلايا سرطان المبيض البشري التي تتميز بمقاومة العلاجات الكيميائية الشائعة الإستعمال كالـ Cisplatin ، فضلاً عن كونها أكثر

فعالية من الـ Taxol و Adriamycin . أما سمّية هذه المركبات تجاه خلايا سرطان الدم Leukemia L1210 فهي مرتبطة بدرجة تأثيرها على بروتين Tubulin T وترتيبه المغزلي (Lobert *et al*.,2000) .

أما فعالية المركبات الفينولية ومنها الفلافونويدات (Flavonoids) فيكون من خلال إمتلاكها فعالية مضادة للأكسدة (Antioxidant) إذ تعمل على إزالة الجذور الحرة المتولدة ، وتُوَّجه الخلية للدخول في مرحلة الموت المبرمج ، ومن الامثلة عن الخلايا السرطانية التي وجد أنها حساسة للمركبات الفينولية هي خلايا Hep-2 وخلايا سرطان عنق الرحم والقولون والبروستات البشرية Martens,2001;Lopez-Lazaro*etal*.,2001;Lopez-(Forkman & Lazaro,2002)

وقد أكد الباحثون إن التأثير التثبيطي لهذه المركبات يمكن أن يكون من خلال إيقاف عملية تضاعف الدنا (DNA) عند مرحلة التصنيع (S-Phase) من دورة الخلية ، كما يحدث لخلايا Hep-2 وSarcomy.L80 (Elangovan *et al*.,1994) ، من جانب آخر يمكن أن يكون التأثير من خلال تثبيط فعالية الجين Bcl-2 (Caceres-Cortes *et al*.,2001 ; Phellechia and Reed,2004) أو العامل (VEGF) Vascular Endothelial Growth factor (Adhami *et al*., 2003) .

تعمل العديد من المركبات الفعالة بإتجاهين متعاكسين إعتماداً على التركيز المستخدم ونوع الخلايا ، فكما يلحظ من خلال النتائج المذكورة إن التراكيز المرتفعة قد ثبطت نمو خلايا AMN-3 ، في حين حفزت التراكيز الواطئة من نمو تلك الخلايا فإزدادت الحيوية ، وقد يعزى ذلك إلى ظاهرة (Hormesis) Hormetic effect التي هي ظاهرة بايولوجية شائعة في علم السموم ، والتي تتميز بوجود تعاكس لعمل الجرعات الواطئة بالمقارنة مع الجرعات العالية ، فيحدث التحفيز عند الجرعات الواطئة وبمعدل يتراوح بين (30-60) % أكثر من السيطرة وبالعكس يحدث تثبيطاً كلياً أو جزئياً عند إستخدام الجرعات العالية (Calabrese and Baldwin,1998 ; Calabrese and Baldwin,2002) .

وتظهر هذه الحالة نتيجة فعل بعض المركبات المضادة للسرطان مثل Mitomycin C و Bleomycin و Actinomycin والمضادات الحيوية والمضادات الفيروسية (Calabrese and Baldwin,2003a) ، بالاضافة الى مبيدات الأعشاب والمبيدات الحشرية

والفطرية والطفيلية (Zheng *et al* .,1999) وبعض الهيدروكربونات والعناصر المعدنية (Calabrese and Baldwin,2003b) ، فضلاًعن بعض العوامل الفيزيائية كالأشعة المؤينة (Feinendegen and Neumann,2005) والأشعة الكهرومغناطيسية (Pollycove and Feinendegen,2003) ،ودرجات الحرارة الواطئة (Rattan,2004) وغيرها من العوامل.

آما عند المقارنة بين نوعي المستخلصين الكحولي والمائي ، فوجد أن المستخلصات الكحولية أكثر فعالية من مثيلاتها المائية في خلايا Hep-2 ، وقد يعود ذلك الى إن نسبة المادة الفعالة التي تم أستخلاصها بالكحول الاثيلي (70 %) تكون اكبر مما هو عليه عند إستخدام المستخلص المائي وهذا ما أشار إليه (Harborn,1984) . أما عند معاملة خلايا AMN-3 بمستخلص الأوراق والأزهار فلم تختلف ، في حين ظهر التأثير التثبيطي بفعالية أكبر عند إستعمال مستخلص البذور المائي مقارنةً بالكحولي ، وقد يكون السبب في ذلك أن كمية ونوعية المواد الفعالة في مستخلص البذور المائي أكبر مما هو عليه في المستخلص الكحولي ، أو ربما خلايا AMN-3 نفسها قد تحوي مستقبلات Receptors أو بعض التحويرات التي جعلتها أكثر حساسية للمواد الفعالة الموجودة فيه .

أوضحت النتائج إن الفترة الزمنية التي تتعرض خلالها الخلايا السرطانية والطبيعية للمستخلصات تلعب دوراً في تحديد شدة التأثير التثبيطي ، إذ يزداد التأثير السمي بزيادة الفترة الزمنية ، فضلاً عن دور التركيز المستخدم ، إذ يعد هذان العاملان أساساً في ذلك .

لم تظهر نتائج التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي في حيوية الخلايا المعرضة للمستخلصات النباتية مقارنةً بمعاملة السيطرة بعد الـ (24) ساعة الأولى من التعريض ، في حين ظهر وجود تباين في التأثير بعدها حسب نوع الخلايا و المستخلص ، إذ إزداد التأثير السمي تدريجياً بعد 48 ساعة ليصل إلى أعلى نسبة تثبيط بعد 72 ساعة بالنسبة لمعاملة خلايا سرطان الحنجرة البشري بالمستخلصات المائية الثلاث ، وكذلك خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري عند المعاملة بالمستخلصات الكحولية . لكن من جانب آخر كان التعريض لمدة 48 ساعة هو الأفضل عند المعاملة بالمستخلصين الكحولي والمائي لخلايا الـ Hep-2 و AMN-3 على الترتيب ، ثم تعود حيوية الخلايا بالإرتفاع بعدها عند إستمرار التعريض لمدة 72 ساعة ، وربما يعزى ذلك إلى زوال تأثير المواد الفعالة ، فالخلايا التي لم تَمُت قد عاودت النمو والإنقسام مما يفسر زيادة أعداد الخلايا الحية . أما عن سبب وجود تباين بين تأثير المستخلصات الخام بأنواعها ، فقد يعود إلى طبيعة المركبات الموجودة في كل مستخلص وتفاعلها مع الطبيعة الأيضية لكل نوع من الخلايا (Shoieb *et al*.,2003) .

فيما يخص مدى إستجابة الخلايا السرطانية والطبيعية لأنواع المستخلصات الخام المدروسة ، فإنها إختلفت حسب نوع المستخلص وطريقة تحضيره ، لكن على العموم كانت خلايا Hep-2 هي الأكثر تضرراً مقارنةً بخلايا AMN-3 و REF عند إستعمال المستخلصات المائية والكحولية بأنواعها الثلاثة (أوراق ، أزهار ، بذور) لكن عند إستعمال مستخلص البذور المائي وُجد أن خلايا AMN-3 هي الأكثر حساسية . أما خلايا REF فإنها كانت الأكثر مقاومة عند إستعمال المستخلصات المائية في حين كانت الـ AMN-3 هي المقاومة عند تعريضها للمستخلصات الكحولية . إن السبب في تباين إستجابة الخلايا السرطانية تجاه المستخلصات المستخدمة ، قد يكون نتيجة تباين المستقبلات الموجودة على سطح الخلايا بين نوع وآخر (Chen *et al*.,2001 ; Li *et al*.,2003) .

أما بالنسبة لتأثير المستخلص الكحولي في الخلايا الطبيعية ، فيعود لكون المركبات الفعالة التي تمتلك فعالية سمية خلوية تؤثر في الخلايا الطبيعية كما تؤثر في السرطانية (Rang *et al*.,1999) . ثم تم التوصل إلى أن مستخلصات نبات السعد الغنية بمختلف المواد الفعالة تمكنت من تقليل حيوية الخلايا السرطانية Hep-2 و RD و AMN-3 ، في حين كان تأثيرها طفيفاً في الخلايا الطبيعية (الحلي،2004) . إن آخر الدراسات التي أجريت في هذا الخصوص تناولت التحري عن التأثير السمي لمستخلص نبات الميرامية تجاه أربعة أنواع من خطوط الخلايا السرطانية وخطي الخلايا المتحولة وخطين آخرين طبيعيين ، وقد توصلت الدراسة إلى وجود تباين في حساسية الخلايا السرطانية ، إعتمَد هذا التباين على التركيز المستخدم ، أما الخلايا المتحولة فكانت مقاومة لمستخلص النبات في حين لم يمتلك المستخلص النباتي تأثيراً سمياً ضد الخلايا الطبيعية (Ibrahim,2005)

وتنفرد الخلايا السرطانية بصفات تفتقر لها مثيلاتها الطبيعية ، إذ تتميز بالإنتهازية والقابلية على الغزو والإنتشار وفرط الحاجة إلى التغذية ، فضلاً عن حدوث تغييرات في بروتيناتها ومستضداتها السطحية ، كذلك تتيمز الخلايا السرطانية بنفاذية أغشيتها ، وهذه الصفة تسهل عملية دخول المركبات إلى داخلها وبشكل عشوائي غير منتظم مما يؤثر سلباً على تلك الخلايا ويسهل من إستجابتها للمواد المضادة التي تتعرض لها (Belijanski,2000 ; Gratton *et al*.,2003) .

2-5 تأثير مستخلصات نبات عين البزون في الخلايا اللمفاوية للأشخاص الأصحاء

يعد إختبار السمية الخلوية في الخلايا الطبيعية من الامور المهمة والأساس الذي يجب التحري عنه عند دراسة تأثير مادة ما لغرض أستخدامها علاجياً ، ومن أهم هذه الخلايا هي الخلايا المناعية ، لاسيما اللمفاوية التي لها القدرة على الانقسام خارج الجسم الحي بتأثير المشطرات . ولكون النباتات والاعشاب الطبية تحتوي على العديد من المركبات التي تختلف نوعاً وكماً ، والتي قد تمتلك فعالية محفزة أومثبطة لنمو وتكاثر وانقسام خلايا الجسم (Seligman *et al.*,2003) لذلك دُرس مدى تأثير مستخلصات نبات عين البزون في الخلايا اللمفاوية ، الذي تضمن ثلاثة جوانب .

تبين من خلال النتائج إن مستخلصات نبات عين البزون المائية الثلاث ، لم يكن لها تأثير سمي مثبط لنمو الخلايا اللمفاوية المحفزة بالمادة المشطرة PHA بل لوحظ في جدول (4-4) ان هناك إرتفاعاً في قيمة معامل الإنقسام الخيطي (MI) لاسيما عند إستعمال مستخلص الازهار المائي ، في حين لم يؤثر مستخلص البذور في إنقسام تلك الخلايا ، إذ لم يكن الإرتفاع الحاصل بقيمة الـ (MI) معنوياً . وبمقارنة هذه النتائج مع نتائج إختبار التحول الأرومي (جدول 4-3) وُجد إن مستخلص الازهار والبذور قلل من قيمة هذا المعامل وبصورة معنوية مقارنةً مع السيطرة ، وهذا قد يشير الى انّ هذه المستخلصات تمتلك تأثيراً مثبطا في قدرة الخلايا اللمفاوية على التحول الى أرومات لمفاوية (Lymphoblasts) ، إذ لم يدل إرتفاع الـ MI الى حدوث تحفيز في إنقسام الخلايا ، بل يمكن أن يعزى الى إمتلاك المستخلصات القدرة على حصاد خلايا الطور الاستوائي Metaphase ، وبما إنها حضنت مع الخلايا لثلاثة أيام ، لذلك فقد عملت على حصاد الخلايا لثلاث دورات إنقسام متتالية ، مما نتج عنه إرتفاع قيمة الـ MI بالرغم من إنخفاض الـ BI .

تباينت النتائج نوعاً ما عند إستخدام المستخلصات الكحولية ، فقد كان هناك إرتفاع كبير بقيمة الـ MI عند إستخدام مستخلص البذور وكذلك الأوراق ، في حين ظهر تأثير سميّ عند إستخدام مستخلص الازهار الكحولي بالتراكيزالمرتفعة (500 , 1000) مكغم/مل فقد سبب إنخفاضاً معنوياً في معامل الأنقسام الخيطي ، قد يعزى الى وجود تراكيز مرتفعة من المواد الفعالة سببت ظهور هذه الحالة ، والتفسير نفسه يمكن أن يذكر بالنسبة لإنخفاض معامل الـ BI ، فكما حدث إنخفاض قيمته بإستعمال المستخلصات المائية (الازهار، البذور) ، فالكحولية منها سببت التأثير نفسه . وعند مقارنة قيمة الـ MI في كلا المستخلصين المائي والكحولي ، وُجد إن المستخلصات الكحولية أعطت إرتفاعاً ملحوظاً بقيمة الـ MI لاسيما البذور ، وهذا يمكن أن يعزى الى أن كمية القلويدات المستخلصة بأستعمال الكحول أكبر مما هو عليه عند أستعمال الأستخلاص المائي (Harborne,1984) ، هذا فضلاً عن إن القلويدات نفسها تعمل على إيقاف إنقسام الخلايا

بطورها الاستوائي من خلال منع بلمرة خيوط المغزل (Ngan *et al*.,2001 ; Pourroy *et al*.,2004) .

جاءت نتائج الجانب الثاني من الدراسة لتعزز ما سبق ذكره ، إذ تم فيه التحري عن إمتلاك مستخلصات نبات عين البزون القدرة على تحفيز الخلايا اللمفاوية على الإنقسام (بغياب الـ PHA) فقد تم التوصل الى عدم قدرة المستخلصات المدروسة جميعهاعلى تحفيز الخلايا على التحول ومن ثم الأنقسام ، وهذا يدل على إن إرتفاع قيمة الـ MI ضمن الجانب الأول للدراسة (بوجود الـ PHA) ، لم ينتج من فعالية المستخلصات المشطرة أو حتى من فعلها التآزري مع مادة الـ PHA .

أما المحور الاخير ، فقد تضمن التقصي عن قدرة المستخلصات على إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الأستوائي ، عند إضافتها لمدة 30 دقيقة قبل إنتهاء مدة الحضانة الكلية البالغة (72) ساعة . أظهرت النتائج إن المستخلصين المائي والكحولي للأوراق قد تمكنا من إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية بطورها الاستوائي وبألتراكيز المستخدمة جميعها وبكفاءة تفوق مادة الكولسيمايد المستعملة كسيطرة موجبة (جدول 4-7) أما مستخلصا البذور والأزهار المائية فلم تقل كفاءتهماعن الكولسيمايد ، إذ لم تكن الفروق الناتجة معنوية بين المعاملات المختلفة جميعها والسيطرة ، بمعنى آخر يمكن إستخدامها كبديل عن مادة الكولسيمايد للغرض المستخدم نفسه . أما المستخلصات الكحولية للإزهار والبذور فقد إختلفت كفاءتها حسب التركيز المستخدم .

يبدو أن مستخلصات نبات عين البزون تمتلك تأثيراً في الخلايا اللمفاوية ، تَمثل بقدرة تلك المستخلصات على إيقاف إنقسام الخلايا بالطور الاستوائي Metaphase ، ويعزى ذلك التأثير لوجود القلويدات ضمن هذه المستخلصات ، فضلاًعن ذلك تشير تلك النتائج الى إحتمالية حدوث تثبيط الأستجابة المناعية لاسيما الخلوية منها ، لإن إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية التائية يمنع إستمرار توالد تلك الخلايا وإنتاج أجيال إخرى منها ، مما ينعكس سلباً على إستجابة الجسم المناعية بصورة عامة .

الاستنتاجات

و

التوصيات

الاستنتاجات و التوصيات
Conclusions and Recommendations

الإستنتاجات : Conclusions

1. تمتلك مستخلصات نبات عين البزون الخام (أوراق ، أزهار ، بذور) تأثيراً سمياً قاتلاً في خطوط الخلايا السرطانية Hep-2 و AMN-3 ، إعتماداً على التركيز ومدة التعريض .
2. إن خط خلايا Hep-2 أكثر حساسية من خط خلايا AMN-3 تجاه المستخلصات المستخدمة .
3. إن المستخلص الكحولي أكثر كفاءة من المائي في تأثيره السمي تجاه الخلايا السرطانية ، كما وله تأثير سمي تجاه الخلايا الطبيعية (REF) .
4. لاتمتلك مستخلصات نبات عين البزون (أوراق ، أزهار ، بذور) بنوعيها المائية والكحولية تأثيراً مشطراً في الخلايا اللمفاوية للإنسان .
5. تمكنت المستخلصات المدروسة من إيقاف إنقسام الخلايا اللمفاوية في طورها الإستوائي عند إضافتها بدلاً من الكولسيمايد .

التوصيات : Recommendations

1. إجراء دراسة لتحديد التأثيرات السمية الوراثية والأنزيمية والنسيجية لمستخلصات عين البزون الخام داخل الجسم الحي .
2. إجراء دراسة للتحري عن التأثير العلاجي لمستخلصات نبات عين البزون الخام في سرطان الغدة اللبنية الفأري المغروس في الفئران .
3. دراسة مدى تأثير مستخلصات نبات عين البزون الخام في دورة توالي الخلية (Cell cycle progression) ، فضلاً عن دورها في توليد تغيرات كروموسومية أو التبادل الكروماتيدي الشقيق .
4. دراسة تأثير مستخلصات نبات عين البزون الخام في الخلايا المناعية داخل الجسم الحي وخارجه .

المصـــــادر

أ- المصادر العربية :

البالاني, ماجد رشيد مجيد (2003). تأثير المستخلصات النباتية الخـــام وقلويـــد الفازيســـين (vasicine) لنبات حلق السبع الشجيري *Adhatoda vasica* في بعض الجـــراثيم المرضية . رسالة ماجـــستير، كلية العلوم ،جامعة بغداد .

الجنابي ، أزهار محمود حليم (2004). دراسة تأثير بعض المستخلصات النباتية في الخلايـــا اللمفاوية لمرضى إبيّضاض الدم النخاعيني المزمن . إطروحة دكتوراه ، كلية العلوم- الجامعة المستنصرية .

الحسني ، منى (2000). التسجيل السرطاني ودوره في برنامج مكافحة السرطان مجلة العلوم ، 110:19-17 .

الحلي ، زيد عبد المنعم علي (2004). تأثـــير المستخـــلصات الخـــام لعشـــب السِـــعِد *Cyperus rotundus* L. في تثبيط نمو الخطوط الخلوية السرطانية . رســـالة ماجستير ، كلية العلوم – جامعة بغداد .

الخفاجي، باسمة ربيع أحمد (2000). تأثير مستخلصات نباتـــات ســـم الفـــراخ والميرميـــة والصفصاف على نمو بعض الفطريات الجلدية . رسالة ماجســـتير، كليـــة العلـــوم- الجامعة المستنصرية .

الدرويش، ثاني مصطفى (1983). موجز في عـــالم العقـــاقير الطبيـــة . وزارة الصـــحة – جمهورية العراق .

الزركاني ، نصير جواد كاظم (2003). دراسة تشريحية ومظهرية مقارنـــة لـــبعض أنـــواع العائلة الدفلية Apocynaceae في العراق . رسالة ماجستير ، كلية العلوم – جامعة الكوفة.

الشحات ، نصرأبو زيد (1986). النباتات وألاعشاب الطبيـــة . المركزالقـــومي للبحـــوث ، القاهرة ، دار البحار – بيروت .

الشماع ، علي عبد الحسين (1989). العقاقير وكيمياء النباتات الطبية . دار الكتب للطباعـــة والنشر – الموصل .

الشمري ، أحمد مجيد حمزة (2003) . دراسة تأثير التحفيز المنـــاعي علـــى نمـــو الخلايـــا السرطانية المغروسة في الفأر الأبيض . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطـــري – جامعة بغداد .

الشيـــباني ، رغـــد ضياء عبد الجليل (2006). تأثـــير مستخـــلصات نبـــات الدفـــلة *Nerium oleander* الخام والنقية في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا الســـرطانية النامية في المختبر وفي الحيوانات المختبرية . إطروحة دكتـــوراه ، كليـــة العلـــوم- الجامعة المستنصرية .

العتابي ، شلال مراد (2001). تأثير المستخلص الكحولي الخام لإوراق نبات ســـم الفـــراخ *Withania somnifera* Dun في نمو الخلايا السرطانية في الزجاج وفـــي بعـــض المعايير الفسلجية في الفئران ، اطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطـــري – جامعـــة بغداد .

العسكري ، محمدعبدالوهاب (2002). دراسة وراثية كيموحيوية للمرضى المصابين بسرطان اللمفوما في العراق بعد العدوان الثلاثيني الغاشم . رسالة ماجستير ، كلية العلـــوم – جامعة بغداد .

الغزي ، باسم عبد الحسين جار الله (2005). تأثير مادة حليب التين على سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران وفي خطوط الخلايا السرطانية في المختبر. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري– جامعة بغداد .

الكاتب ، يوسف منصور(1988). تصنيف النباتات البذرية . وزارة التعليم العالي – جامعة بغداد .

المختار، انتصارمنصورعبد(1994).دراسة بعض الخصائص الدوائية لبعض النباتات الطبية في بعض الديدان الطفيلية في الفئران المختبرية.رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري –جامعة بغداد

المنظمة العربية للتنمية الزراعية AOAD (1988).النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي .الخرطوم .

الموسوي ، علي حسين عيسى (1987) علم تصنيف النبات . وزارة التعليم العالي – جامعة بغداد .

اليعقوبي ، كفاح جبار شاكر(2004). دراسة تأثير مستخلصي الكحول الأثيلي والهكساني لثمار نبات الهيل (Cardamom) *Elettria cardomomu* في خطوط الخلايا السرطانية والخلايا الطبيعية للدم المحيطي للإنسان خارج الجسم . رسالة ماجستير ، كلية العلوم – جامعة الكوفة .

قطب ، فوزي طه (1981). النباتات الطبية ، زراعتها ومكوناتها . دار المريخ – الرياض .

ب- المصادر الأجنبية:

Abdul-Majeed, M.R.(2000). Induction and characterization of SU.99 plasmacytoma cell line and its effect on mice immune response. Ph.D. thesis, Nahrain University .

Aboul-Ela, E.(2002). Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping . Mutation Res., 516:11-17 .

Ackerblom, L. ; Ehrenberg, A. ; Grasl, U.A. ; Lankinen, H. ; Reichard, P. and Lander, L.(1986). Overproduction of the free radicals of ribonucleotide reductase in hydroxyl urea-resistant of mouse fibroblast . Proc. Nat. Acad. Sci. USA .pP. 21-59 .

Adel, S.W. and Graneit, T.K. (1982). Natural products of chemistry . University of Mosul , Mosul .

Adhami, V.M. ; Ahmed, N.and Mukhtar, H.(2003). Molecular target for green tea in prostate cancer prevention . J. Nutr., 133:2417-2424 .

Agha, M.S. and Lotze, M.T.(2000). Regulation system : Application in gene therapy and replicating viruses. J. Clin. Inv., 105:1177-1183 .

Aitken, K.E.(1999). Gulfwar Leaves Legacy of cancer.BMJ,319:401 .

Al-Dabhawi, A.H.(2005). Effect of crude extract of *Artemisia herba alba* on cancer cells growth inhibition *in vitro* and treatment of transplanted tumor in mice. Ph.D. Thesis. Veterinary Medicine, Baghdad Univ, Iraq .

Alexandrova, R. ; Alexandrov, I. ; Velcheva, M. and Varadinova,T. (2000). Phytoproducts and ancer . Experimental Pathology and Parasitology , 4:15-26 .

Al-Qadoori, J.F.A.(2004). Effect of some local plants on normal and cancer

cells *in vitro* . Ph.D. Thesis, College of Science, Al-Nahrain University, Iraq

Al-Rawi, A. (1964). Wild plants of iraq with their distribution . Tech. Bull.14 . Dir Gene of Agr. Proj. , Ministry of Agriculture, Government Press,pP.131 .

American Cancer Society (2002). Cancer Facts and Figures 2005 . American Cancer Society, Atlanta .

American Cancer Society (2005). Cancer Facts and Figures 2005 . American Cancer Society, Atlanta .

Ames, B.N. ; Gold, L.S. ; and Willett, W.C.(1995). The causes and prevention of cancer. Proc. Natl. Acad. Sci.USA, 92:5258-5265.

Antherden, L.M.(1969). Benthy and Davis text book of pharmacential chemistry, (8^{th} Ed.), Oxford University press, London,pP.916 .

Aronson, K.(2003). Alcohol: a recently identified risk factor for breast cancer. Canadian Medical Association, C.M.A.J. April 29, 2003; 168(9) .

Barba, M.; McCann, S. E.; Schunemann, H. J.; Stanges, S.;Fuhrman, B.; DePlacido, S.; Carruba, G.; Freudenheim, J.L.; Trevisan, M.; Russell, M.; Nochajski, T. and Muti, P. (2004). Lifetime total and beverage specific-alcohol intake and prostate cancer risk : A case-control study. Nutrition Journal, 3:23-30.

Barclay, M.M.(2000). Cancer surgery. In: Nevidjon,B.M. and Sowers, K.W.(ed.). A nurse`s guide to cancer care . Lippincott, Philadelphia. Pp. 192 .

Barthe,L. ; Ribet,J. ; Pelissou,M. ; Degude,M. ; Fahy,J. and Dufglos,A. (2002) . Optimization of the separation of vinca alkaloids by nonaqueous capillary electrophoresis . Journal of Chromatography A, 968:241-250.

Bast, R.C. ; Zalutsky, M.R. ; Kreitman, R.J. ; Sausville, E.A. and Frankel, A.G.(2000). Principles of biotherapeutics : Monoclonal serotherapy . In: Bast, R.C. ; Kufe, D.W. ; Pollock, R.F. ; Weichselboum, R.R. ; Holland, J.F. ; Ferri, I.E. and Ganster, T.E.(eds.). Cancer Medicine(5th Ed.). BC. Decker Inc. , Canada .

Belijanski, M.(2000). The anticancer agent PB-100 selectivity active malignant cell inhibits multiplication of sixteen malignant cell lines, even multidrug resistant. Genet. Mol. Biol., 23:224-235 .

Bergh, H.V. and Sandberg, A.A. (1986). A survey of chromosome rearrangements in leukemia and lymphoma. In : Genetic rearrangements in leukemia and lymphoma . Goldman , J.M. and Harnden, D.G.(eds). Leukaemia and Lymphoma Res. , 2:27-45 .

Bernabei, P.A. ; Landini, I. ; Bartolozzi, B. ; Banchelli, I. ; Degli, I. ; Santini, V. and Ematologia, U.O.(1999). Activity of vinorelbine on B-chronic lymphocytic leukemia cells *in vitro* . Adv. Exp. Med. Biol., 457:473-476 .

Betancur-Galvis, L. A. ; Saez, J. ; Granados, H. ; Salazar, A. and Ossa, J. E. (1999) . Antitumor and antiviral activity of Colombian medicinal plant extracts. Mem. Inst. Oswaldo Crez, 94:531-535 .

Blaser, M. J. and Atherton, J. C.(2004). *Helicobacter pylori* persistence : biology and disease . J. Clin. Invest., 113:321-333 .

Boffetta, P. and Garfinkel, L.(1990). Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American cancer society, prospective study. Epidemiology, 1:342-348 .

Bourgaize, D. ; Jewell, T.and Buiser, R.(2000). Biotechnology, demytifiny the concepts.(4th ed). McGraw-Hill, New York. Pp.313-335 .

Boyd, W.(1970). Pathology. LEA and Febiger, Philadelphia,pP.493-515.

Brady, J. O. ; Levin, M. ; Simon, K. and Ahmed, T. (1994) . Stimultaneous occurrence of chronic myelogenous Leukemia and signet-ringed adenocarcinoma of the rectum . Acta. Haematol., 91:26-27.

Broaddus, V.C. ; Yang, L. ; Scavo, L. M. ; Ernst, J. D. and Boylan, A. M. (1996) . Asbestos induces apoptosis of human and rabbit pleural mesothelial cells via reactive oxygen species. J. Clin. Invest., 98:2050-2059 .

Bronzetti, G. (1997). The role of antimutagenesis and anticarcinogenesis . J. Enviro. Path. Toxi. Onco., 4:259-262 .

Bruneton, J. (1995) . Pharmacognosy Photochemistry Medicinal Plants .(2nd Ed). Translated by : Caroline K. Hatton Tec and Doc , Laroisier , Paris . pP: 1009-1024 .

Burkill, (1935). In: Flora of Iraq(1980). Townsend, C.C. and Guest, E.. Baghdad, Iraq , Vol.4 , part 1 pP: 526-541 .

Butler, M.(1996). Animal cell culture and technology ,The basics .IRL Press., Oxford Univ. Press Inc. , New York .

Caceres-Cortes, J.R. ; Cantu-Graza, F.A. ; Mendoza-Mata, M.T. ; Chavez-Gonzales, M.A. ; Ramos-Mandujano, G. and Zambrano-Ramires, I.R. (2001). Cytotoxic activity of *Justica spicigera* is inhibited by Bcl-2 proto-oncogene and induces apoptosis in a cell cycle dependent fashion. Phytother. Res., 15:691-697 .

Cairns, J. (1981). The origin of human cancer . Natur., 289:353-357.

Calabrese, E. J. and Baldwin, L. A. (1998) . Hormesis as a biological hypothesis . Enviro. Health Prespectives Supplements, 106:11-15 .

Calabrese, E. J. and Baldwin, L. A.(2002). Defining hormesis . Hum. Exp.

Toxicol, 21:91-97 .

Calabrese, E. J. and Baldwin, L. A. (2003a). Chemotherapeutics and hormesis . Crit. Rev. Toxicol., 33:305-353 .

Calabrese, E.J. and Baldwin, L. A.(2003b). Inorganics and hormesis . Crit. Rev. Toxicol., 33:215-304 .

Carpenter, C. L. ; Morgenstern, H. and London, S. J .(1998). Alcohol beverage consumption and lung cancer risk among residents of Los Angeles county. The Journal of Nutrition, 128:694-700 .

Cassileth, B. R. (1999). Evaluating complementary and alternative therapies cancer patients' . CA-cancer J.Clin. 49:362-375.

Chadha, Y. R. (1976) . The wealth of India (Raw materials) . V.X.Sp.W. Pp. 580-585 .

Chen, F.D. ; Wu, M. ; Wang, H.E. ; Hwang, J.J. ; Hong, C.Y. ; Huang, Y.T. ; Yen, S.H. and Ou, Y.H.(2001). Sensitization of tumor but not normal tissue, to the cytotoxic effect of ionizing radiation using *Panax notoginseng* extract . Am. J. Chin. Med., 16:234-242 .

Chessells, J.M. ; Bailey, C. and Richards, S.M.(1995). Intensification of treatment and survival in all children with lymphoblastic leukemia : Result of U.K. Medical Research Council Trail UKALLX. Lancet, 345:143-148 .

Choi, M.A. ; Kim, S.H. ; Chung, W.Y. ; Hwang, J.K. and Park, K.K. (2005). Xanthorrhizol, a natural sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an anti-metastatic potential in experimental mouse lung metastasis model. Biochem. Physiol. Res. Commun. , 326:210-217 .

Cooney, R. V. ; Mordan, L. J. and Franke, A.(1997) . Multiple mechanisms of cancer prevention by phytochemicals : Interaction between cellular proliferation and endogenous mutagens . In : Food Factors for Cancer

Prevention. H. Ohigashi ; T. Osawa ; J. Terao ; S. Watanbe and T. Yoshikawa (eds.), Springer-Verlag, Tokyo. Pp:26-29 .

Cooper, G.M.(1997). The Cell: A molecular approach . Oxford University Press, Pp:599-608 .

Darling,D.C. and Morgan,S.J.(1994). Animal cells culture and media . John Wiley and Sons Ltd. , UK .

Diaz-Carballo, D. ; Seeber, S. ; Strumberg, D. and Hilger, R.A.(2003) . Novel antitumoral compound isolated from *Clusia rosea* . International Journal of Clinical Pharmacology and therapeutics , 41:622-623 .

Donald, K.D.(1981). Tissue culture and the study of secondary natural products. In: The biochemistry of plants . P.K. stumpf and E.E. Conn, Vol. 7, pp.21-31 , Academic Press .

Dorgan,J.F. ; Bear,D.J. ; Albert,P.S. ; Judd,J.T. ; Brown,E.D. and Corle,D.K.(2001). Serum hormones and the alcohol–breast cancer association in postmenopausal women . J. Natl. Cancer Inst., 93:710-715.

Easty, D.M. ; Easty,G.C. ; Carter,R.L. ; Mouaghan,P. and Butler,L.J. (1981). Ten human carcinoma cell lines derived from squamous carcinomas of the head and neck . Br. J. Cancer, 43:772-785.

Elangovan, V. ; Ramamorthy, N. ; Balasubramabian, S. ; Sekar, N. and Govindsany, (1994). Studies on the antiproliferative effect of some naturally occurring bioflavonoidal compound against human carcinoma of larynx and sarcoma-180 cell lines. Indian J. Pharm., 26:266-269 .

Feinendegen, L.E. and Neumann, R.D.(2005). Physics must join with biology in better assessing risk from low-dose irradiation . Radiat. Prot. Dosimetry, 33:105-153 .

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

Fox, S.I. (2002) . Human Physiology (7^{th}. ed.) . McGraw-Hill Higher Education, Taipei, Toronto .

Fransworth, N.R,(1961). The pharmacognosy of the periwinkles : vinca and Catharanthus . Lioydia, 24 : 105-138.

Freshney, R.I.(1994). Culture of animal cells . A manual of basic technique . New York .

Freshney, R.I.(2000). Culture of animal cells : A manual for basic technique (4^{tl} ed.)Wiley-liss, A John wiley and sons, Inc. publication, New York.

Freshney, R.I.(2001). Application of cell culture to toxicology . Cell Biology and Toxicology , 17:213-230 .

Friedman, J.M.(1996). Cancer and Genetics. In: Fredman,J.M. ; Dill,F.J.; Hayden,M.R. and McGillivray,B.C.(eds.). Genetics,($2^{nd)}$. Williams and Wilkins, London: 161-163.

Ganapathi, B. and Kargi, F.(1990) .Recent advances in iodole alkaloids production by *Catharanthus roseus* (periwinkle), Journal of Experimental Botany,41:259-267.

Gaynor, E.R. and Fisher, R.I.(1994). Biologic Therapy. In: Clinical Oncology. Abeloff, M.D. ; Armitage, J.D. ; Lichter, A.S. and Niederhuber, J.E.(eds.). Churchill Livingstone . pp:275-294 .

Ghosh, R.K. and Gupta, I.(1980). Effect of *Vinca rosea* and *Ficus racemososus* on hyperglycemia in rats . Indian J. Animal Health, 19:145-148 .

Ginsburg,E.S. ; Mello,N.K. ; Mendelson,J.H. ; Barbieri,R.I. ; Teoh,S.K. and Rothman,M.(1996). Effects of alcohol ingestion on estrogens in postmenopausal women . JAMA, 276:1747-1751.

Glover, D. (1997). Oncologic Diseases. In: Medicine.(3rd ed.). A.R. Myers (ed.) . Williams and Wilkins, Baltimore. pp. 143-198.

Gragg, G.M. ; Newman, D.J. and Weiss, R.B.(1997). Coral reefs, forests, and thermal vents : the worldwide exploration of nature for novel anticancer agents . Seminars in Oncology, 24:156-163 .

Granfield,T. and Bunch,C.(1995). Acute Leukemia Medicine, 23: 503-508.

Gratton, J.P. ; Lin, M.I. ; Yu, J. ; Weiss, E.D. ; Jiang, Z.L. ; Fairchild, T.A. ; Iwakiri, Y. ; Groszmann, R. ; Clafley, K.P. ; Cheng, Y.C. and Sessa, W.C.(2003). Selective inhibition of tumor microvascular permeability by cavtratin blocks tumor progression in mice . Cancer Cell, 4:1-39 .

Gronbaek,M. ; Becker,U. ; Johansen,D. ; Tonnesen,H. ; Jensen,G. and Sorensen,T.I.(1998). Population based cohort study of the association between alcohol intake and cancer of the upper digestive tract. Br.M.J, 317:844-848 .

Hakimuddin, F. ; Paliyath, G. and Meckling, K. (2004). Selective cytotoxicity of a red grape wine flavonoid fraction against MCF-7 cells. Breast Cancer Res., 85:65-79 .

Hansen, M.F. and Cavenee, W.K.(1987). Genetics of cancer predisposition . Cancer Res., 47:5518-5527.

Harborne, J.B.(1973). Phytochemistry Methods . Chapman and Hall, London, pp.182-192 .

Harborne, J.B. ; Mabray, T.J. and Mabray, H.(1975). Physiology and Functior of Flavonoids . Academic press,New York, Pp.970.

Harborne J.B. (1984). Phytochemical Methods . (2nd ed.) Chapman and Hall , London,193 .

Hill, R.P.(2001). The biology of cancer . In: Clinical Oncology (8^{th} ed.) Rubin , P. (eds.),. W.B. Sanders Company , Philadelphia , pp:32-45 .

Ho, C.K. and Chen, C.C.(2003). Moscatilin from the orchid *Dendrobrium loddigesii* is a potential anticancer agent . Cancer Invests., 1:729-736. .

Holland, E.(2000). Glossary for Holland`s grimoire of magickal correspondences. Connected by internet .

Ibrahim, A. I. S. (2005) . Effect of Crude Extracts of *Slavia triloba* L.F. on Neoplastic , Transforming and Normal Cell Lines . Ph.D. thesis , College of Science, Baghdad University .

Ip, C. ; Lisk, D.J. and Thompson, H.J.(1996) . Selenium-enriched garlic inhibits the early but not the late stage of mammary caricnogenesis Carcinogenesis, 9:1979-1982 .

Ishikawa, K. ; Naganawa, R. ; Yoshid, H. ; Iwata, N. ; Fujion, T. And Suzuki, A (1996) . Antimutagenic effects of ajoene, an organosulfur compound derived from garlic. Biosci. Biotechnol. Biochem., 12:2086-2088 .

Jemal, A. ; Tiwari,R.C. ; Murray,T. ; Ghafoor,A. ; Samuels,A. ; Ward,E. ; Feuer,E. and Thus,M.(2004). Cancer Statistics 2004. CA Cancer J. Clin., 54:8-29

Jensen, O.M. ; Paine, S.L. ; McMichael, A.J. and Ewertz, M. (1996) . Alcohol . In : Cancer Epidemiology and Prevention. Schottenfeld, D. and Fraumeni, J.F. (eds) . New York:Oxford Univ. Press, pp.290-318 .

Jordan, M.A. ; Thrower, D. and Wilson, L.(1991). Mechanism of inhibition of cell proliferation by vinca alkaloids . Cancer Research, 51:2212-2222.

Jorde, C.(1999). Medical genetics, (2^{nd} ed.). Moseby press, pp.30 .

Junshi, C.(1992). The antimutagenic and anticarcinogenic effect of tea , garlic and other natural foods in China: a review. Biomed. Enviro. Sci., 5:1-17 .

Kamat, V.N. ; Desa, J. ; Vaz, A. ; Fernandes, F. and Bhatnagar, S.S.(1958). Isolation and characterization of chemical constituents from *vinca rosea* Linn (N. O. Apocynaceae). Indian J. Med. Research, 46:588-597 .

Kar, A. ; Choudhary, B. K and Bandyopadhyay, N. G. (2003) . Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats . Journal of Ethnopharmacology, 84:105-108 .

Karp, G. (1984). Cell Biology (2^{nd} ed.). McGraw-Hill Book Company, New York .

Kato, I. ; Nomura, A.M. ; Stemmermann, G.N. and Chyou, P.H. (1992). Prospective study of the association of alcohol with cancer of the upper aerodigestive tract and other sites . Cancer Causes Control, 3:145-151 .

Kavallaris, M. ; Tait, A. S. ; Walsh, B. J. ; He, L. ; Horwitz, S. B. ; Norris, M.D. and Haber, M.(2001). Multiple microtubule alterations are associated with Vinca alkaloids resistance in human leukemia cells. Cancer Res., 61:5803-5809 .

Kazemzadeh, M. ; Velkeniers, B. ; Herregodt, P. ; Collumbien, R. ; Finne, E. ; Derde, M.P. ; Vanhaelst, L. and Horge-Peters, E.L.(1992). Differential dopamine-induced prolactin mRNA levels in various prolactin-secreting cell subpopulation . Journal of Endocrinology, 132:401-409 .

Khurana, S. ; Dubey, M. L. and Malla, N.(2005). Association of parasitic

infections and cancers. Indian J. Med. Microbiol. , 23:74-79 .

Kruczynski, A. and Hill, B.T.(2001). Vinfunine, the Vinca alkaloid in clinical development . A review of its preclinical anticancer properties . Critical Previews in Oncology/ Hematology 40: 159-173 .

Kongmun, S. (2000) . *Catharanthus roseus* (Madagascar periwinkle) . Yoonkis Tropical Garden .

Kufe, D.W. ; Advani, S. and Weichselbaum, R.(2000). Cancer Gene Therapy . In: Cancer Medicine (5^{th} ed.) .Bast,R.C. ; Kufe,D.W. ; Pollock,R.E. ; Weichselbaum, R.R. ; Holland,J.F. ; Frei,I.E. and Ganster,T.S.(ed.)., B.C. Decker Inc., Canada .

Kumar, V. ; Cotron, R.S. and Robbins, S.L.(2003). Robbins Basic Pathology (7^{th} ed.). Saunders,company Pennsylvania, USA. pp:165-210.

Kundson, A. G. (1984) . Genetic Predisposition to cancer . Hered. , 100:171-172 .

Kundson, A.G. (1987) . A two mutation model for human cancer In : Advances in Viral Oncology. Klein, G. (ed.) Raven Press, New York : 1-17 .

Lau, B. H. S. ; Tadi, P. P. and Tosk, J. M.(1990). *Allium sativum* (garlic) and cancer prevention . Nutr. Res., 10:937-948 .

Laurence, D.R. and Bennett, P.N.(1992). Clinical pharmacology , (7^{th} ed.), Churchill Livingstone, New York and Tokyo,

Lechner, J. F. ; Tokiwa, T. ; Laveck, M. ; Benedict, W. F. ; Banks-Schlegel, S. ; Yeager Jr., H. ; Banerjee, A. and Harris,C.C.(1985). Asbestos-associated chromosomal changes in human mesothelial cells. Proc. Natl. Acad. Sci., 82:3884-3888 .

Lee, T. H. ; Elledge, S. J. and Putel, J. S. (1995). Hepatitis B virus X protein interacts with a probable cellular DNA repair protein . J. Virol. ,

69:1107-1114 .

Lehne, R.A. (2001) . Pharmacology for Nursing Care .(4th ed). W.B. Saunders Company, Philadelphia. pp. 1101-1140.

Lewin, B. (2000) . Genes VII . Oxford University Press,. pp: 873-912 .

Li, Y.M. ; Ohno, Y. ; Minatoguchi, S. ; Fukuda, K. ; Ikoma, T. ; Ohno, T. ; Fujiwora, H. (2003). Extracts from the roots of *Lindera strychifolia* induces apoptosis in lung cancer cells and prolong survival of tumor bearing mice . Am. J. Chin. Med., 31:857-869 .

Lichter, A.S.(1994). Radiation therapy . In: Abeloff, M.D. ; Armitage, J.O. ; Lichter, A.S. and Niederhuber, J.E. (eds.). Clinical Oncology. Churchill Livingstone, pp.219-263 .

Lieberman, M.W. and Lebovitz, R.M.(1996). Neoplasia . In : Anderson`s Pathology. (ed) . Kissane, J. M. (ed). Mosby Company , Baltimore.

Lips, J. and Kaina, B. (2001). DNA double-strand breaks trigger apoptosis in *p53*-deficient fibroblasts. Carcinogenesis, 22:579-585 .

Liu, J. ; Shen, H.M. and Namong, C.(2000). *Salvia miltiorrhiza* inhibits cell growth and induces apoptosis in human hepatoma Hep-G2 cells. Cancer Letters, 153:85-93 .

Lobert, S. ; Fahy, J. ; Hill,B.T. ; Duflos,A. ; Etievant,C. and Correia, J.J.(2000). Vinca alkaloid-induced tubulin spiral formation correlates with cytotoxicity in the leukemia L 1210 cell line. Biochemistry,39:12053-12062 .

Lobert, S. ; Frankfurter, A. and Correia, J.J.(1998). Energetics of vinca alkaloid interactions with tubulin isotypes: Implications for drug efficacy and toxicity. Cell Motility and the Cytoskeleton, 39:107-121 .

Lopez-Lazaro, M. ; Galvor, M. ; Martin-Lordero, C. and Ayuso, M.J. (2001). Cytotoxicity of flavonoids on cancer cell lines : Structure-activity

relationship study . Curr. Med. Chem., 1:82-114 .

Lopez-Lazaro, M.(2002). Flavonoids as anticancer agents : Structure-activity relationship study . Curr. Med. Chem., 2:691-714 .

Machida, K. ; Cheng, K. T. ; Sung, V. M. ; Shimodaira, S. ; Lindsay, K. L. ; Levine, A. M. ; Lai, M. Y. and Lai, M. M. C.(2004). Hepatitis C virus induces a mutator phenotype : Enhanced mutations of immunoglobulin and protooncogenes. PNAS, 101:4262-4267 .

Mac Sween, R.N.M. and Whaley, K.(1997).Muris Textbook of pathology.(13th .ed.)Oxford University Press ,Inc.New York, USA, pp355-409.

Madden, C.R. ; Finegold, M.J. and Slagle, B.L.(2002). Altered DNA mutation spectrum in aflatoxin B1-treated transgenic mice that express the hepatitis B virus X protein. J. Virol. , 76:11770-11774 .

Maher, K.E.(2000). Principles of radiation therapy . In: A Nurse`s Guide to Cancer Care. Nevidjou, B.M. and Sowers, K.W. (eds.). Pp.215 . Lippincott, Philadelphia .

Mahony, D.E. ; Gilliatt, E ; Dawson, S. ; stockdale, E. and Lee, S.H.(1989). Vero cell assay for rapid detection of *Clostridium perfringins* enterotoxin. Appl. Environ. Microbial., 55:2141-2143 .

Mannick,E ;Bravo,L.and Zarama,G.(1996).Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and apoptpsis in Helicobacter pylori gastritis effect of antibiotics Cancer Res., 56:3238-3243.

Mareel, M.M. ; Storme, G.A ; DeBruyne, G.K. and VanCanweberge, R.M.(1982). Vinblastine, vincristine and vindesine : Anti-invasive effect on MO4 mouse fibrosarcoma cells *in vitro* . Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 18:199-210 .

Martin, P.M. (1999). Basic Dramard Oncology Course . Faculte de medicine nord-Bd Pierre, Marseille .

Mather, J.P. and Roberts, P.E.(1998). Introduction to cell and tissue culture theory and technique . Plenum Press. , New York .

McCance, D. J. (2000) . Papillomaviruses. In : Principles and practice of clinical virology , (4th ed.). A. J. Zuckerman ; J. E. Banatvala and J. R. Pattison (Eds.) . John Wiley and Sons , Chichester . Pp.607-618 .

McGavin, J.K. and Spencer, C.M.(2001). Gemtuzumab ozogamicin. Drugs, 61:1317-1322 .

Medinger,M. ; Unger,C. and Drevs,J.(2003). Pflanzliche Zytostatika Forschung and klinik . Bundesgesund Heitsbl-Gesundheits Forsch-Gesundheitsschutz .46:1050-1054 .

Mellors, R.C.(1999). Neoplasia, etiology of cancer : carcinogenesis. Ph.D. Thesis , College of Medicine , Cornell University , USA.

Ministry of Health (2001). Results of Iraqi cancer registry, 1998-2001, Iraqi cancer boarder .

Moertel, C.G.(1977). Multiple primary malignant neoplasms : historical perspectives . Cancer (Phila.), 40:1786-1792 .

Montbriand, M.J. (2004). Herbs or natural products that decrease cancer growth. Oncology Nursing Forum, 31:75-90 .

Moore, A.E. ; Sabachewsky, L. and Toolan, H.W. (1955) . Culture characteristics of four permanent lines of human cancer cell . Cancer Res., 15:598-606.

Morabia, A.(2002). Smoking (active and passive) and breast cancer : epidemiologic evidence up to June 2001. Environ. Mol. Mutagen, 39:89-95.

Morgan, A. ; Cone, R. and Elgert, T.(1976). The mechanism of DNA strand breaks by vit-C and superoxide and protective roles of catalase in

cultured human lymphocyte. Muta. Res.:1139-1149 .

Mostafa, M.H. ; Sheweita, S.A. and O`connor, P.J.(1999). Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. Clinical Microbiology Reviews, 12:97-111 .

Mueller, N.E. (2000). Hodgkin`s disease. In : Hancock, B.W. ; Selby, P.J. ; Maclennan, K. and Armitage, J.O. (eds.) Malignant lymphoma. Arnold, London ,pp. 161-168 .

Mukherjee, A.K. ; Basu, S. ; Sarkar, N. and Ghosh,C.A.(2001). Advances in cancer therapy with plant based natural products. Current Medicinal Chemistry, 8:1467-1486 .

Mundt, A.J. ; Roeske, J.C. and Weichselbaum, R.R.(2000). Physical and biological basis of radiaton oncology . In: A Nurse`s Guide to Cancer Care. Bast, R.C. ; Kufe, D.W. ; Pollock, R.F. ; Weichselboum, R.R. ; Holland, J.F. ; Ferri, I.E. and Ganster, T.E.(eds.). Cancer Medicine(5th Ed.). BC. Decker Inc. , Canada .

Munger, K. ; Baldwin, A. ; Edwards, K. M. ; Hayakawa, H. ; Nguyen, C. L. ; Owens, M. ; Grace, M. and Huh, K. W.(2004) . Mechanism of human papillomavirus-induced oncogenesis. J. Virol. , 78:11451-11460 .

Murray, R.K.(1996). Cancer, Cancer Genes, and Growth Factors. In: Harper’s Biochemistry.(24th Ed). R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell (Eds.), Appleton and Lange, Stamford . pp. 757-778.

Nakamura, H. and Yomamota, T.(1982). Mutagen and antimutagen in ginger, *Zingiber officinale*. Mutation Res., 103:119-126 .

Nammi, S. ; Boini, M.k. ; Lodagala, S.D. and Behara, R.B.(2003). The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. Reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rabbits . BMC Complementary and Alternative Medicine , 3:4-7 .

Nath, J. and Krishna, G. (1997). Fundamental and applied genetic toxicology . In : Modern Pharmacology with Clinical Applications. (5th ed). C.R Craig and R.E. Stitzel (eds). Little Brown Company, Boston. Pp.69-78 .

Nayak, S.K. and Dillman, R.O.(1991). Establishment of multiple tumour cell lines from a patient with melanoma: A simple method to control fibroblast growth . Clinical Biotechnology, 3(4):1237-1242 .

Neogi, N.C. and Bhatia, M.C. (1956). Biological investigation of *Vinca rosea* linn . Indian J. Pharm. , 18: 73-78 .

Nevidjon, B.M. and Sowers,K.W.(2000). A Nurse's guide to cancer care. Lippincott Company,philadelphia.

Ngan, V.K. ; Bellman, K. ; Hill, B.T. ; Wilson, L. and Jordan, M.A. (2001) . Mechanism of mitotic block and inhibition of cell proliferation by the semisynthetic vinca alkaloids vinorelbine and its new derivative vinflunine. Molecular Pharmacology, 60:225-232.

Nicholson, W.J. and Landrigan, P.J. (1989). Quantitative assessment of lives lost due to delay in the regulation of occupational exposure to benzene. Environmental Health Perspectives, 82:185-188 .

Nicoletti, M. ; Serafini, M. ; Feofri Federici, E. ; Galeffi, C. and Poli, F., (1997). Indole alkaloids from aerial parts of *vinca* . Sardo A Phytochemistry , 47: 49-151 .

Nishibe, S.(1997). Bioactive phenolic compounds for cancer prevention from herbal medicines. In:. H. Ohigashi ; T. Osawa ; J. Terao ; S. Watanabe and T. Yoshikawa. (eds.) . Food factors for cancer prevention Springer, Tokyo . pp.276-279 .

Nobel, R.L. ; Beer, C.T. and Cutts, J.H.(1958). Role of chance observations in

chemotherapy : *Vinca rosea* . Ann. N. Y. Acad. Sci., 76:882-894 .

Nowell, P.C. and Hungerford, D.A.(1960). A minute chromosome in human granulocytic leukemia . Science. pP.132-149 .

Okouneva, T. ; Hill, B.T. ; Wilson, L. and Jordon, M.A.(2003). Effect of vinflunine , vinorelbine and vinblastine on centromere dynamics. Molecular Cancer Therapeutics, 2:427-436 .

Parekh, H.R. and Simpkins, H.(1996). Cross-resistance and collateral sensitivity to natural product drugs in cisplatin-sensitive and resistant rat lymphoma and human ovarian carcinoma cells. Cancer Chemother. Pharmacol. , 37:457-462 .

Parker, R.C. (2000) . Radiation Oncology. In : Manual of Clinical Oncology (4^{th} ed.) . D. A. Casciato and B. B. Lowitz (eds.). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia . Pp:43-47 .

Parkin, D.M. ; Ohshima,H. ;Srivatanakul,P. amd Vatanasapt,V.(1993): Cholangiocarcinoma:epidemiology,mechanisms of carcinogenesis and prevention .Cancer Epidemiol. Biomarkers prev.,2:537-544.

Pathake, S. ; Multani, A.S. ; Narayan, S. ; Kumar, V. and Newman, R.A. (2000). Anvirzel ^{TM} , an extract of *Nerium oleander*, induced cell death in human and cancer cells . Anticancer Drug , 11:455-463 .

PDR for Herbal Medicine,(1998). Physicians Desk Reference (PDR). Medical Economics Company, New Jersey . pp: 1216.

Pelletier, S.W.(1970). Chemistry of the alkaloids. Van Nostrand Reinhold Company, pp.213-265.

Perkins, P.R. and Stern, D.F.(1997). Molecular biology of cancer: oncogenes. In: Devita, V.T. ; Hellman, S. and Rosenberg, S.A. (5^{th} ed.). Lippincott Ravers Publishers, Philadelphia, New York .

Phellechia, M. and Reed, J.C.(2004). Inhibition of anti-apoptotic Bci-2 family

proteins by cancer chemoprevention and chemotherapy . Curr. Pharm. Des., 10:1387-1398 .

Philips, D.H. (2002). Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. Carcinogenesis, 23(12):1979-2004 .

Pollock, R.E. and Morton, D.L. (2000). Principles of surgical oncology. In: Cancer Medicine (5th ed.). Bast, R.C. ; Kufe, D.W. ; Pollock, R.F. ; Weichselboum, R.R. ; Holland, J.F. ; Feri, I.E. and Ganster, T.E.(eds.). BC. Decker Inc. , Canada .

Pollycove, M. and Feinendegen, L.E.(2003). Radiation-induced versus endogenous DNA damage: possible effect of inducible protective responses in mitigating endogenous damage . Hum. Exp. Toxicol., 22:290-306 .

Pornthanakasem, W. ; Shotelersuk, K. ; Termrungruanglert, W. ; Voravud, N. ; Niruthisard, S. and Mutirangura, A.(2001). Human papillomavirus DNA in plasma of patients with cervical cancer. BMC Cancer, 1:2-9 .

Pourroy, B. ; Carre, M. ; Honore, S. ; Bourgarel-Rey, V. ; Kruczynski, A. ; Briand, C. and Braguer, D. (2004). Low concentrations of vinflunine induce apoptosis in human SK-N-SH neuroblastoma cells through a postmitotic G1 arrest and a mitochondrial pathway . Mol. Pharmacol., 66:580-591 .

Puri, A ; Sahai ,R. ; Singh,K.L. ; Saxena,R.P. ; Tandon,J.S. ; Saxena,K.C. (2000). Immunostimulant activity of dry fruits and plant materials used in Indian traditional medical system for mothers after child birth and invalids . Journal of Ethnopharmacology, 71: 89–92 .

Rang, H.P. ; Dale, M.M. and Ritter, J.M.(1999). Pharmacology,(4th ed.), Charchill Livingstone Edinbergh . pp.663-684 .

Rattan, S.I.(2004). Hormetic mechanisms of anti-aging and rejuvenating

effects of repeated mild heat stress on human fibroblasts *in vitro* . Rejuvenation Res., 7:40-48 .

Reichman, M.E. ; Judd, J.T. ; Longcope, C. ; Schatzkin, A. ; Clevidence,B.A. and Nair,P.P.(1993). Effects of alcohol consumption on plasma and urinary hormone concentrations in premenopausal women . J. Natl. Cancer Inst., 85:722-727.

Ricky, A. ; Sharma, H. and Kiristi, A. (2001) . Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral curcuma extract in patients with colorectal cancer .Clinical Cancer Res., 7:1894-1990 .

Rinsky, R.A. and Young, R.J.(1981). Leukemia in benzene workers. American J. of Industrial Medicine

Robinson, T.(1969). The organic constituents of Higher Plants. Pp.256 , Burgess Publishing Company .

Ross, D.W. (1997). Introduction to Molecular Medicine (2nd ed.). Springer, New York ; Berlin ; London; Tokyo .

Roxburgh, (1892). In: Flora of Iraq (1980).Townsend, C.C. and Guest, E.. Baghdad, Iraq ,.4 : 526-541 .

Ruddon, R.W. (1981). Cancer Biology. Oxford University Press, New York.

Russell, B. (1997) . Poisonous Plant of North Carolina , Department of Horticultural Science , *Catharanthus roseus* connected by Internet .

Russell, P. J. (1987) . Essential Genetics. (2nd ed). Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp:86-89 .

Russell, P. J. (1998) . Genetics (5th ed.). The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. Menlo park, USA. pp:585-614.

Sa`eed, O. F. (2004) . The Effect of green and black tea extracts on different cell lines *in vitro*. M. Sc. Thesis, College of Pharmacy , University of Mosul, Mosul, Iraq .

Sahito, S.R. ; Kazi, T.G. ; Kazi, G.H. ; Jakhrani, M.A. and Shaikh, M.S. (2001). Trace elements in two varieties of indigenous medicinal plant *Cathranthus roseus* (*Vinca rosea*). The Science, 1 : 74-77.

Salomi, N.J. ; Nair, S.C. ; Jayawardhanan, K.K. ; Varghese, C.D. and Panikkar, K.R. (1991). Antitumour principle from *Nigella sativa* seeds . Diabetes Res. 18:163-168 .

Sasaki, S. and Fukuda, N. (1999) . Dose-response relationship for induction of solid tumors in female B6C3F1 mice irradiated neonatally with a single dose of gamma rays. J. Radiat. Res., 40: 229-241 .

Schoket, B. (2004). The role of DNA adducts in smoking-related carcinogenesis. Magy Onkol., 48(3):201-205 .

Seligman, I.C. ; Lim, P.O.L. ; Plimio, C.S. ; Khayat, A.S. ; Bahia, M.O. ; Buchi, D.F. ; Cabral, I.R. and Burbano, R.R.(2003). The anticancer homeopathic composite "Canova method" is not genotoxic for human lymphocytes *in vitro.* Genet. Mol. Res., 1:223-228 .

Sesso, H.D. ; Paffenbarger, R.S. and Lee, M.(2001). Alcohol consumption and risk of prostate cancer: The Harvard alumni health study. International J. of Epidemiology, 30:749-755.

Sherr, C.J.(1994). G1 phase progression: cycling on cue cell.79:551-555 .

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

Shoieb, A.M. ; Elgayyar, M. ; Dudrick, P. ; Bell, E. and Titnof, P.K.(2003). Inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thimoquinol . Int. Oncology, 22:107-113 .

Shubber, E.K. and AL-Allak,B.M. (1986). Spontaneous chromosomal aberration and SCE in human lymphocytes Effects of culture

conditions. Nucleus, 22:92-98.

Singh, S.N, ; Vats, P. and Suri, S.(2001). Effect of an antidiabetic extract of *Catharanthus roseas* on enzymic activities in streptozotocin induced diabetic rats. J. Ethnopharmacol., 76:269-277.

Skeel, R.T.(1999). Basis of Cancer Chemotherapy . In: Handbook of cancer chemotherapy. (5^{th} ed). Skeel, R.T.(ed). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. Pp:3-17 .

Stephen, G.(2000). Apocynaceae including Asclepidaceae , College of St. Benedict , St. John`s University , Connected by internet .

Sweetman, S.C. and Morpharms, B. (2002) . The Complete Drug Reference , (33 ed.), Martindale, London .pP.476-508 .

Takimoto, C.H.(2003). Anticancer drug development at the US National Cancer Institute . Cancer Chemother. Pharmacol., 52: S29-S33 .

Tang, Y. L. ; Gan, R. L. ; Dong, B. H. ; Jiang, R. C. and Tang, R. J.(2005). Detection and location of *Helicobacter pylori* in human gastric carcinomas . World J. Gastroenterol., 11:1387-1391 .

Tice, R.R. ; Costa, D.L. and Drew, R.T. (1980). Cytogenetic effects of inhaled benzene in murine bone marrow : Induction of sister chromatid exchanges, chromosomal aberrations and cellular proliferation inhibition in DBA/2 mice . Proc. Natl. Acad. Sci., 77:2148-2152 .

Tom, B.H. ; Rutzxy, L.P. ; Jakstys,M.M. ; Oyasu,R. ; Kaye,C.I. and Kaha,B.D. (1976). Human colonic adenocarcinoma cells . I. Establishment and description of a new line . *In vitro,* 12:180-191 .

Toolan, H.W.(1954). Transplantable human neoplasms maintained in cortisone treated laboratory animals: H.S.-1 , Hep-1 , Hep-2 and Hep-3 . Cancer Res., 14:660-666 .

Townsend, C.C and Guest ,E.(1980). Flora of Iraq .Baghdad ,Iraq .4:526-541.

Turner, P.C. ; Mclennan, A.G. ; Bates, A.D. and White, M.R. (2000). Molecular Biology (2nd Ed.). Bios, London .

Tyler, V.E. ; Brady, L.R. and Robbers, J.E.(1988). Pharmacognosy ,(9th ed.) , Lea and Febiger, Philadelphia, USA .

Usia, T. ; Watabe, T. ; Kadota, S. and Tezuka, Y. (2005) . Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) inhibitory constituents of *Catharanthus roseus* . Biol. Pharm. Bull. , 28:1021-1024 .

Van Der Heijden, R. ; Jacobs, D.I. ; Snoeijer, W. ; Hallard, D. and Verpoorte, R. (2004). The Catharanthus alkaloids : Pharmacognosy and biotechnology . Curr. Med. Chem. , 11: 607-628 .

Vazquez-Flota, F. ; Carrillo-Pech, M. ; Minero-Garcia, Y. and Miranda-Ham,M.(2004). Alkaloid metabolism in wounded *Catharanthus roseus* seedlings . Plant Physiology and Biochemistry, 42:623-628.

Velkeniers, B. ; Kazemzadeh, M. ; Vanhaelst, L. and Horge-Peters, E.L.(1994). A function heterogeneity with respect to oestrogen treatment in prolactin cell subpopuolations separated by percoll gradient centrifugation . Journal of Endocrinology, 141:251-258 .

Verma, R.S. and Babu, A.(1989). Human Chromosomes.(1st ed). Pergamou Press. U.S.A. printing .

Vidyasagar, M.S. ; Ramanujam, A.S. ; Fernandes, D.J. ; Koteshwar, R.K. ; Jadhav, G.K. ; Hospet, C.S. ; Seetharamaiah, T. ; Vidyasagar, S. and Subramanyam, K.(1999). Vincristine (Vinca-alkaloid) as a sclerosing agent for malignant pleural effusions . Acta. Oncol., 38:1017-1020.

Vincent, T.D. ; Samuel, H. and Steven, A.R.(1981). Cancer Principles and Practice of Oncology,p: 135-136 .

Vineis,P. ; Airoldi,L. ; Veglia,F. ; Olgiati,L. ; Pastorelli,R. ; Autrup,H. ;

Dunning,A. ; Garte,S. ; Gormally,E. ; Hainaut,P. ; Malaveille,C. ; Matullo,G. ; Peluso,M. ; Overvad,K. ; Tjonneland,A. ; Clavel-Chapelon,F. ; Boeing,H. ; Krogh,V. ; Palli,D. ; Panico,S. ; Tumino,R. ; Bueno-De-Mesquita,B. ; Peeters,P. ; Berglund,G. ; Hallmans,G. ; Saracci,R. and Riboli,E.(2005). Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. B.M.J,330: 227-281 .

Webster-Cyriaque, J. ; Middledorp, J. and Raab-Traub, N.(2000). Hairy leukoplakia : an unusual combination of transforming and permissive Epstein-Barr virus infections. J. Virol., 74:7610-7618 .

Weir,H.K. ; Thun ,M.S. ; Hankey,B.F. ; Ries,L.A. ; Howe,H.L. ; Wingo, P.A ; Jemal,A. ; Ward,E. ; Anderson,R.N. and Edwards,B.K. (2003). Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the use of surveillance data for cancer prevention and control . JNCI, 95:1276 - 1299.

Williams,M. and Ouhtit,A. (2005). Towards a better understanding of the molecular mechanisms involved in sunlight-induced melanoma. Journal of Biomedicine and Biotechnology,1:57-61 .

Wilson, A.P.(2000). Cytotoxicity and viability assay. In: Animal Cell Culture : A practical approach ,(3rd ed.). Masters, J.R.W., Published by United States by Oxford University Inc. New York ,USA.

Wink, M. and Witte, L.(1984). Turnover and transport of quinolizidine alkaloids: Diurnal variation of Iupanine in the phloem sap, leaves and fruits of *Lupinus albus* L. Planta 161:519-524 .

Wink, M.(1987) . Physiology of the accumulation of secondary metabolites with special reference to alkaloids . In Cell Culture and Somatic Cell

Genetics of Plants,F. Constable, Indra K.Vasil.4:17-42 .Academic press, INC .

Wolf, U. (1974). The order Boveir and his book " on the problem of the origin of malignant tumors " . In: Chromosomes and Cancer. J.G. German (ed.). John Wiley and Sons Inc., New York P:3-20 .

Worthen, D. ; Ghosheh, O. and Crooks, P. (1998). The *in vitro* antitumor activity of some crude and purified components of *Nigella sativa* L. . Anticancer Res.,18:1527-1532 .

Yaseen, N.Y. (1990). Cytogenetic study of human colorectal cancer cell . Ph. D. thesis , University of Sheffield .

Yaseen, N.Y. ; Tawfiq, M.S. ; Humadi, A.A. and Estivan, A.G. (1998) Cytogenetic studies on patient with chronic myelocytic leukemia. Med J. Tikrit University, 4:5-9.

Yaseen, N.Y.(1999). Tumor origin ; polyclonal or monoclonal . The Medical Journal of Tikrit University, 5:167-175 .

Yunis, J.J.(1983) .The chromosomal basis human neoplasia . Science., 221:227-236.

Zheng, T. ; Holford, T.R. ; Mayne, S.T. ; Ward, B. ; Carter, D. and Owens, P.H. (1999). DDE and DDT in breast adipose tissue and risk of female breast cancer . Am. J. Epidemiol., 150:453-458 .

Zheng, W. and Wang, S.Y. (2001) . Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs . J. Agric. Food Chem., 49:5165-5170.

SUMMARY

This study included two main tasks ; The first was studying the cytotoxic effects of aqueous and alcoholic crude extracts of *Vinca rosea* leaves , flowers and seeds on human epidermoid laryngeal carcinoma cell line (Hep-2) and murine mammary adenocarcinoma cell line (AMN-3) . While the second task was studying the toxic effects of these extracts on normal human lymphocytes and their ability to antimitogenic .

The results showed those crude aqueous and alcoholic extracts of *Vinca rosea* possess significant cytotoxic effect on Hep-2 and AMN-3 cells dependent on concentration and exposure time in comparison with normal control .

However low concentrations of aqueous extracts were found to induce the AMN-3 cells growth and proliferation .

The results revealed that aqueous crude extracts didn't have toxic effect on normal fibroblasts cultured from rat embryo (REF), while alcoholic extracts caused high cell viability reduction when compared with control .

The crude extracts of *Vinca rosea* didn't have toxic effects on which proliferation of human lymphocytes stimulated by mitogen (PHA) , whereas these extracts showed mitogenic effect on lymphocytes as measured by MI , however they caused reduction in the BI .

The crude extracts didn't have the ability for stimulation of transformation and proliferation of human lymphocyte *in vitro* .

Crude extracts had the ability to cease the human lymphocyte metaphase stage better than colcemide especially when use of leave extracts (aqueous & alcoholic) .

The Effect of Crude Extracts of *Vinca rosea* on the Growth of Some Normal and Tumor Cell Lines of Some Mammalians *in vitro*

A Thesis Submitted

By

Likaa Hasoun Sagban Al-Jeburee

TO

The College of Education of the University of Kerbala as a Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Education /Biology (Zoology)

Supervised By

Professor Dr. Nahi Yusif Yassen **Dr. Hadi Rasoul Hassan**

2006 A .D. 1427 A.H.