Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research

Plant and Biological Extracts in Cancer Therapy

Edit by

Dr. Nahi Yousif Yaseen

Dr. Shalal Murad Hussein

Dr. Firas Subhi Saleh

Msc. Maeda Hussein Mohammad

2008

Plant and Biological Extracts in Cancer Therapy

Edit by

Dr. Nahi Yousif Yaseen

Dr. Shalal Murad Hussein

Dr. Firas Subhi Saleh

Msc. Maeda Hussein Mohammad

2008

Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research

Copyright © 2008 by ICCMGR

All rights reserved. This product is protected by copyright. No part of it may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without written permission from the publisher.

Printed in Baghdad, Iraq.

ICCMGR
Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research

For further information:

Baghdad, Alqadissiya Q., Sec. 603, St. 23, Behind Al-Yarmook Hospital

Fulfilment and designed by: Dr. Firas Subhi Saleh

Contents:

Title	*Researchers*	*Page No.*
Preface		**1**
Plant Extracts		
Effect of crude Alcoholic extract of *Withania somnifera Dun* on growth of cancer cell line *in vitro* and on some physiological parameters in mice	***Shalal M. Hussien; Kamel F. Khazal; Nahi Y. Yaseen***	**5**
The study of the effect of ethanolic alcohol and hexane extracts of *Eleettaria cardamomum* (cardamom) on cancer cell lines and human Lymphocyte of peripheral blood cells in vitro	***Kifah J. Al-Yaqube; Nahi Y. Yaseen***	**6**
Inhibitory Effect of *Cyperus rotundus* L. Crude Extracts on Cancer Cell Lines	***Zaid Abdul-Muniam Ali; Badry A. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen***	**8**
The effect of green and black Tea extracts on different cell lines *in vitro*	***Omar F. Saeed; Nabel M. Jawad; Nahi Y. Yaseen***	**9**
Effect of some Local plants extracts on normal and cancer cells (*in vitro*)	***Jehan F. Ashraf; Khlood Al-Sammeraie; Nahi Y. Yaseen***	**11**
Effect of crude extracts of *Salvia triloba* L. f. on Neoplastic, Transformed and Normal cell line	***Abdallah I. Saleh; Badry A. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen***	**12**
Effect of *Ficus carica* latex on mammary adenocarcinoma implanted in mice and cancer cell lines *in vitro*	***Bassem Abdul-Hussein; Khaleel H. Zenad; Nahi Y. Yaseen***	**13**
Effect of crude extract of *Artemisia herba alba* on cancer cells growth inhibition *in vitro* and treatment of Transplanted tumor in mice	***Ahmed H. Abood; Khaleel H. Zenad; Nahi Y. Yaseen***	**15**
Study the effect of some crud & pure *Nerium oleander* leaves extractions on the normal cells and cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*	***Raghad DH. Abdul-Jalill; Abdul-Azieze M. Al-Kubasy; Nahi Y. Yaseen***	**17**

Study of the effect of crude extracts from *Salix acmophylla* on cancer cell lines and Human Normal Lymphocyte *in vitro*	***Azhaar M. Jaffer; Hadi R. Hasan; Nahi Y. Yaseen***	**20**
The Effect of Crude Extracts of *Vinca rosea* on the Growth of Some Normal and Tumor Cell Lines of Some Mammalians *in vitro*	***Likaa H. Sagban; Hadi R. Hasan; Nahi Y. Yaseen***	**21**
Study of the anticancer effects of *Olea europea* Leaves crude extracts (*in vitro* & *in vivo* study)	***Hamid N. Ubied; Jabbar Y. Al-Miah; Nahi Y. Yaseen***	**22**
Study the effect of Alcoholic extract of *Withania somnifera* Dun in experimentally implanted mammary adenocarcinoma in mice	***Sahar D. Toma; Kamel F. Khazal; Shalal M. Hussien***	**25**
The role of Rhubarb (*Rheum ribes*) and Thyme (*Thymus syriacus*) aqueous extracts in the inhibition of mutagenic effects of Gemcitabine and the carcinogenic effects of 7, 12-DMBA male albino mice (Mus musculus)	***Karim J. Karim; Bushra M. Amin; Nahi Y. Yaseen***	**26**
Study of pathological, immunological and cytogenetic effect of crud extract of *Urtica dioica* on cancer cells *in vitro* and treatment of transplanted tumor in albino mice	***Eman H. Yousif; Talib A. Makkawi; Nahi Y. Yaseen***	**28**
Study the effect of crude extracts of fruits and seeds of date palm (*Phoenix dactylifera* cultivar Zahdi) on some cancer cell lines *in vitro* and treatment of transplanted mammary adenocarcinoma in mice	***Yasir H. Zaidan; Badry A. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen***	**31**
Study the *in vitro* and *in vivo* effect of alcoholic extract of *Withania Somnifera* dun roots on cancer cell line and experimentally induced mammary Aden carcinoma in mice	***Azal H. Juma'ah; Kamel F. Khazal; Shalal M. Hussien***	**33**
Study the effect of some crud & pure *Nerium oleander* leaves extractions on the normal cells and cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*	***Raghad H. Taha; Nabel K. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen***	**35**
Cytotoxic and Cytogenetic Effects of Crude Extracts of *Capparis spinosa* L. on Tumour Cell Lines *in vitro* and *in vivo*	***Asaad Abdul-Wahed Bader; Nahi Y. Yaseen***	**36**

The effect of crude alcoholic extracted for the Seed and Leaves of *Apium graveolens* Var. dulce in the mammary gland adenocarcinomas in female albino mice	***Marwa A. Hussein; Rassmiya H. Murad; Shalal M. Hussien***	**39**
Cytotoxic and cytogenetic effects of Local Rhubarb (*Rheum ribes* L.) crude extracts on normal and cancer cells *in vitro*	***Haja J. Hedayet; Nadhum J. Ismaiel; Nahi Y. Yaseen***	**42**
Study cytotoxic and cytogenetic effects of Flaxseed crude extracts on some cancer cell lines	***Ashraf N. Saad; Abdul-Zahra K. Mohammed; Nahi Y. Yaseen***	**43**
Effect of crude extract *Silybum marianum* L. seeds on cancer and normal cell lines	***Israa S. Salmman; Mohammed Abdul-Hadi Gali; Nahi Y. Yaseen***	**44**
Effect of Crude watery extract of Pomegranate pericarp (*Punica granatum*) on cancer cell line *in vitro* and in mice	***Aseel Y. Kadhim; Muhanad M. Nori; Shalal M. Hussien***	**45**
Study the Effect of the Polyphenolic Compounds Extracted from Grape Skin Fruit *Vitis vinifera* on Some Cell Lines (*in vitro)*	***Zainab Y. Mohammed; Essam F. Al-Jumaily; Nahi Y. Yaseen***	**46**
Effect of crude extract for stems of *Lactuca serriola* L. plant on cancer and normal cell lines	***Iman I. Abdul-Hameed; Abdul-Hakeem A. Al-Abdullah; Nahi Y. Yaseen***	**48**
Influence of Polyphenols Extracts of Green Tea *Camellia sinensis* on the Normal and Cancer Cells Lines *in vivo* and *in vitro*	***Mahfoodh A. Umran; Ghazi M. Aziz; Nahi Y. Yaseen***	**49**
Effect of Curcumin crude extracts on cancer cell line	***Firas S. Al-Taee; Nadia T. Barakat; Teeba H. Jaafer; Khansa R. Al-Saady***	**51**
Growth Inhibitory Effect of Cabbage Extracts on Hep-2 Cell line	***Shalal M. Hussien; Firas S. Al-Taee; Khansa R. Al-Saady; Nadia T. Barakat; Rasha A.Hussein***	**52**
Biological Extracts		
Studying Some Biological Effects of Colicins on Normal and Cancer Cells *in Vitro* and *in Vivo*	***Hind H. Obaid; Rajwa H. Essa; Nahi Y. Yaseen***	**53**

Cytotoxic effect of Pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa* on some human and animal cancer and normal cell lines	***Shayma S. Al-Azawi; Lina Abdul-Kareem; Nahi Y. Yaseen***	**57**
Investigating the genotoxicity of *Escherichia coli* bacterial extracts	***Najah R. Mohammad; Entwan S. Al-Bana; Ismail K. Shubber***	**58**
A Bacteriological and Immunological study on Pyocin extracted from local isolate of *Pseudomonas aeruginosa* and its effect on cancer cell *in vivo* and *in vitro*	***Majeda M. Mitaab; Nidhal Abdul-Mohymen; Nahi Y. Yaseen***	**60**
Production and Purification of L-asparaginase (L- asparagines amidohydrolase) E.C.3.5.I.I. from microorganisms and using it in malignant tumors (*in vitro*)	***Mohammad Q. Abd-Mustafa; Mohammad O. Mohee-Al-Deen; Nahi Y. Yaseen***	**62**
Effect of royal jelly and propolis on some tumor cells *in vitro* and *in vivo*	***Khalid M. Salih; Bedir M. Al-Azawi; Nahi Y. Yaseen***	**66**
A Study on the role of polysaccharides extracted from capsule of locally isolated *Klebsiella pneumoniae* in the inhibition of cancer cells *in vivo* and *in vitro*	***Mohammed A. Darwish; Rashid M. Musleh; Nahi Y. Yaseen***	**68**
Effect of Water and Alcoholic Extracts of Mushroom *Agaricus bisporus* on some Tumor Cells *In vitro* and *In vivo*	***Waffa F. Ibrahim; Hana H. Mengelo; Nahi Y. Yaseen***	**70**
A Study of the Effect of Wall Teichoic Acid (WTA) Extract from *Enterococcus faecalis* on Normal and Some Cancer Cell lines	***Shahlaá A. Hassan; Hayfa H. Hassani; Nahi Y. Yaseen***	**72**
Cytogenetic and Apoptotic effects of Ceramide on cancer cells: *In vivo* and *in vitro*	***Muthana I. Maleek; Hayfa H. Hassani; Nahi Y. Yaseen***	**73**
Effect of ETEC *Escherichia coli* enterotoxins on cancer cells, cell lines and laboratory animals	***Ilham S. Abdul-Karim; Rashid M. Al-Musleh; Nahi Y. Yaseen***	**74**

Preface

Cancer, in all types, has been not well understood and usually fatal. Cancer has become the most common cause of death throughout the world. Every year millions of individuals implicate with this horrible disease. Despite the most recent technological advances in early diagnosis, screening procedures, identification of individuals at risk, and improved treatment, the morbidity and mortality of cancer have remained virtually unchanged. However, some countries showed increasing incidence of cancer morbidity and mortality in the recent years. One of the major health problems facing the world nowadays is cancer which remains a major challenge. Hence all national or international cancer centers or conferences call for identifying other accesses for cancer treatment and prevention.

Cancer has been proved to be heterogeneous in its constitutions, behavior, and response to treatment. Current therapeutic regimes (chemotherapy, radiotherapy, and surgery) have not been well satisfied by physicians and even by cancer patients themselves. Therefore interesting scientific media remain seeking hardly for more accesses for cancer treatment and prevention. Accordingly the area of anticancer therapeutics has gained enormous attentions from scientists all over the world.

In spite of the high technology and great progress achieved recently in the field of drug development and industry, "***the return to nature***" is the slogan that has been raised worldwide. Nature is an unlimited fertile source for natural product against microbes and cancer. Plants are one of the most components of the nature and can give valuable benefits for various aspects. Beside the role of plants as a source of food, plants can be a potential source for anticancer agents and the mechanism of interaction between many phytochemicals and cancer cells are being studied extensively. There are 250000 species of plants in our planet out of which more than one thousand plants have been found to possess significant anticancer properties. The efforts of cancer research centers and researchers have brought about a number of anticancer agents derived from plant which have been approved by USFDA, such as Taxol, Taxotere, Vincristine, Vinblastine, Navelbine, Etoposide, Teniposide, Topotecan, and Irinotecan. These products have encouraged cancer researchers to pay high attention on plants as a source of anticancer compounds. Many scientific conferences have been hold in

different countries about the benefit of plant extract as a source of drugs for cancer treatment. Recently a conference for natural products for drug discovery and development was held in June 2005 in London to put novel approaches to accelerate screening of natural products and to confirm the continuity of supply of these products. National Cancer Institute (NCI) in America has engaged in offering services for the preclinical screening of compounds from plant extract. More than 115000 plant extracts have screened for their anticancer activity. Between 1990 and 1996 approximately 20 anticancer agents have been approved for marketing. These include, Biclutamide, Bisanteren, Cytarabine ocfosfate, Docetaxel, Formestane, Fludarabine phosphate, Gemcitabine, Idarubicin, Irinotecan, Interferon, Gamma la, Miltefosine, Taxol, Pagaspaegase, Pentostatin, porfimer sodium, Raltitrexed, Sobuzoxane, Topotecan, Zinostatin Stimalamer. Although many molecules obtained from plant extract have shown wonderful effect, there are a huge number of molecules that still either remains to be trapped or studied in details by researchers.

Plant based medicines have often found important roles in the treatment of cancer; this has made cancer centers around the world to focus on and screening their local plants for anticancer activity. NCI has put a new strategy for studying the effect unknown compound by *in vitro* cancer cell lines. These strategies may lead for discovery of new drug against cancer. Three hundred billion dollars of pharmaceutical businesses turned to medical plants instead of synthetic chemical production for anticancer drugs globally. In Iraq the Ministry of Higher Education and Scientific research/ Directorate of research and development has put a big plan and announced to support the research projects on Iraqi medicinal plants and herbs aiming to the possibility producing therapeutic agents from them. Medicinal plants have well screened in developed countries concerning their potential anticancer activity whereas developing countries possess enormous bank of these plants still have not been well screened. Iraq is one of these developing countries, which has different kind of medicinal plants that may possess potential active anticancer compounds that may play a role in cancer treatment or prevention.

Iraq is rich in plant species (about 4000 medicinal plant species) and its natural resources have not been utilized for the development of therapeutic products. The implementation of a large scale project of acquisition and testing of compounds isolated from Iraqi medicinal plants by high-throughput screening techniques consisting of many different human cancer cell lines seems more likely to yield a hit when compared with screening of rationally compounds. Since 1999 Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research (ICCMGR) has adopted the idea of Iraqi local plant screening to assess their activity against cancer *in vitro* and *in vivo.* ICCMGR performed preliminary studies by using crude extracts from local plants on cancer cell lines and on animal with cancer. Findings from these studies have been proved to be promising and wonder. The ICCMGR researchers are unable to follow up their studies to approach final stages of drug development because of the shortage in some technologies. The potential activity of crude extract from some Iraqi plants has been assessed on different human and animal cancer cell lines and on animals implicated with induced cancer. These plants include *Withania somnifera*, cardamom, nut grass (*Cyperus rotandus*), *Plantago media*, pumpkin , Fig milk, Oleander, date seed, Black seeds, flaxseed, black and green tea, grapes, and garlic. These encouraging and promising findings and the availability of true enthusiasm have pushed ICCMGR researcher to continue their hard work on assessing the anticancer compounds in Iraqi local plants aiming to discover new cancer drugs. This proposal has been planned to carry out research work to assessing the anticancer compounds in Iraqi local plants aiming to discover new anticancer drugs.

Other biological materials like bacterial toxins, extracts or enzyme, fungal extracts, and other organism product are also involved successfully in the cytotoxicity assay against cancer cells resembling the behavior of antibiotics but directed to cancer cell rather than microorganisms. These biological material have been investigated from different aspects in order to explore their anti-cancer potentiality and then to establish new protocols for cancer fighting by using such biological materials. Hence, the researchers in the ICCMGR are well awareness for this field; therefore they have directed their attention to perform some works on these biological materials

such as bacterial extracts and toxins, fungal products and others. The results of these projects revealed fruitful and promising findings which encouraged them to continue their work in this field.

Dr Nahi Yousif Yaseen
Professor of Cancer genetics
Director General
Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research

Effect of crude Alcoholic extract of *Withania somnifera Dun* on growth of cancer cell line *in vitro* and on some physiological parameters in mice

Shalal M. Hussien; Kamel F. Khazal; Nahi Y. Yaseen

The objectives of this project were to study the effect of different concentration of 70% alcoholic extract of the leaves of Withania somnifera Dun, on the growth of cancer cell line SU 0.099 (Plasmacytoma), the physiological and pharmacological effect on mice.

The result of the first experiment showed that the yield of the 70% alcoholic extract was 15.4% from 50 gm of leaves.

The second experiment was preformed to propagate the SU 0.099 cell line from present tissue culture of the same line. A pure cell line was obtained which contained plasmacytoma cell without any contamination.

The third experiment was conducted to study the inhibitory effect of different concentrations of the extract on the SU0.099 cell line. The result showed that inhibition progressed as the concentration of the extract increased. The significant inhibition ($P< 0.05$) was obtained at a concentration of (31, 62, 125) µg/ml of the culture media as compared to the control.

The fourth experiment was performed to assess the acute toxicity (LSD50) of the extract on mice, after oral and the results showed that LSD50 for the extract was 1348 mg\ kg intraperitioial administration.

The fifth experiment was profound to study the effect of the extract on physiological parameters such as (RBCS count, Hb, PCV, WBCS Count, DWBCS, enzymes such as Acid phosphotase, alkaline phosphotase, ATL, AST and body weight of the animals. By using different routs of administration, oral route at the dose of (100, 150 and 200) mg\ kg, and by intraperitonal injection at doses of (50, 100 and 150) mg\ kg body weight. The results showed that the extract caused a significant increase ($P< 0.05$) in RBC, PCV, Hb and Acid phosphotase as compared to the control, and also lead to a significant increase ($P< 0.05$) in final body weight, also showed some degenerative changes in liver, kidney and spleen.

In conclusion, the extract showed inhibitory effect on cancer cell line and it is promising to use as anticancer drug alone or with other traditional

method of anticancer therapy, sine it is effective and safe, also the extract have stimulant effect on bone marrow to produce blood cells and anabolic effect.

The study of the effect of ethanolic alcohol and hexane extracts of *Eleettaria cardamomum* (cardamom) on cancer cell lines and human Lymphocyte of peripheral blood cells in vitro

Kifah J. Al-Yaqube; Nahi Y. Yaseen

In the last years, there is great awareness regarding cancer management and searching for substitution to traditional therapeutic method, which remains the only way for cancer treatment, in spite its side effects and so now a days, the scientific research focusing on traditional medicine as one of the most important substitution therapeutic methods.

Spices considered as one of plants which classified under the term anticancer and cardamom seeds were selected for this study. This study aimed to extract the plant active compound for cardamom seeds by a number of organic solvent and study the effect of such extracted material on cancer cell lines, type Hep-2 and RD and normal Lymphocyte in peripheral blood of human being.

The first experiment included extraction of two groups from cardamom seeds, extract type I (ethanolic alcohol), the organic solvent used was absolute ethanol 95%, type II (hexane) natural hexane was used as solvent. The extract percent 10% for ethanolic alcohol and 7.5% for hexane.

The extract active compounds of ethanolic alcohol and hexane extracts was detected by using primitive reagents, the ethanolic alcohol extract revealed a high qualification regarding the presences active compound like alkaloid, and phenols, in comparison with hexane extract.

The median lethal dose was estimated as (LSD50) applied on male balb\c mice and results was 5.07 gm for each 1 kg body weight and 5.37 gm for each kg for ethanolic alcohol and hexane extracts respectively.

The growing and multiplication of cell lines type Hep-2 and RD was done by tissue culturing under sterile laboratory conditions.

The experiment, concentrated on studying inhibitory activity of ethanolic alcohol and hexane extracts on cancer Hep-2, after dealing it with dilutions and for three times (24, 48 and 72) hrs. being with 100 mg\ ml until 0.001 mg\ ml concentrations.

The optical density of cancer cell line (that stained with neutral red stain) was read and wave length of 492 nm. Used as parameter for the viability of cell line, the results was inhibition of high significant for the extract ethanolic alcohol and hexane in concentrated 1. 10, 100 mg\ ml and 10, 100 mg\ ml respectively in comparison with control, an increasing by increased incubation period.

Some of the concentrations that prepared by Di-dilutions method used to know the minimal inhibitory concentration enable to inhibit cancer cell growth, these are (0.12, 0.25, 0.5, 1.0) mg\ ml for extract ethanolic alcohol and (1.25, 2.5, 5.0, 10.0) mg\ ml for hexan extract. We find that minimal concentration which inhibits cancer cell growth is 0.5 mg\ ml for ethanolic alcohol extract and 2.5 mg\ ml for hexane extract.

The steps of Perrier experimement was repeated, with replacement of cancer line type Hep-2 by RD cancer cell line and studied the effect of extract ethanolic alcohol and hexan after dealing for three days. The results were strong inhibition for extract ethanolic alcohol and hexane for the concentration 1. 10, 100 mg\ ml and 10, 100 mg\ ml respectively.

The extract was tested in storge condition at -20 ° C and shows its complete stability.

The genetic study for cancer cell line after dealing with extract ethanolic alcohol and hexane for three days, and don't reveal any chromosomes in high concentration level for extract ethanolic alcohol 1. 10, 100 mg\ ml and 10, 100 mg\ ml for extract hexane as compared with control.

The activity of extracts ethanolic alcohol and hexane in lymphocyte of peripheral blood was studied depend on the results of changing in mitotic index and chromosomal change.

The effect of extract ethanolic alcohol and hexane was not significant in mitotic index in concentration (0.01, 0.1, 1.0, 10.0, and 100.0) mg\ ml and there was no chromosomal change.

Inhibitory Effect of *Cyperus rotundus* L. Crude Extracts on Cancer Cell Lines

Zaid Abdul-Muniam Ali; Badry A. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen

This project considered as a explorer study for the activity of secondary metabolites in local medicinal herbs, named *Cyperus rotundus L*. (Sa'ad), and its effect on numerous cancer cell lines *(In vitro)* and study the immunomodulatory effect of those compounds on human lymphocyte.

The study regarded the following:

First: Preparations of three crude extracts by three types of solvents (*n-Hexane, Double distilled Water, Absolute Ethanol*), and the percentage of extractions varied from extract to another according to the solvent, polarity and extraction method.

Second: Study the cytotoxic activity of prepared concentrations from crude extracts (7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µgm/ml) on various cancer cell lines (Hep-2, RD, AMN-3) with three exposure time (24, 48, 72 hr.), and also on normal cell line (MEF) with one exposure time (72hr). The result is a clear cytotoxic activity of those crude extracts with high significances in a three cancer cell lines during the three exposure time, suggesting that the cytotoxic effect of those crude extracts is a dose and time dependant, but in (MEF) cell line, there is no significant effect of those crude extracts reported, suggesting also, that may be the active compound of Sa'ad posses some specificity in cytotoxcicity on cancer cells rather than normal cells. Estimation of CC50, suggested that the Hexane crude extract of Sa'ad had the best cytotoxic activity on Hep-2 and RD cell lines with a concentrations 109µg/ml and 96µg/ml respectively, and the Water crude extract had the best cytotoxic activity on AMN-3 cell line with a concentration 62.5µg/ml. This result also suggested that AMN-3 cell line it the most sensitive cancer cell line to all Sa'ad crude extracts, but the Hep-2 cell lines it the less sensitive cancer cell lines to these crude extracts.

Third: Study the immune effect of Sa'ad crude extracts on human lymphocyte without and with mitogen (PHA) in exposure time 72 hour. Without PHA the result was, increasing in lymphocyte numbers with high significance from the low concentrations (Hexane 62.5,Water 125,Ethanol 7.81)µg/ml, reaching specific concentrations (Hexane 62.5,Water 125,Ethanol 125)µg/ml, which the numbers of lymphocyte became decreased after those concentrations with high significance until the high

concentration 1000µg/ml in each extracts. This result suggests that those crude extracts had Immunomodulatory effect on lymphocyte division depending on the concentration in its effect. With PHA the result is also immunomodulatory effect but with a synergistic effect of those crude extracts with PHA in form of increase the immunomodulatory effect, suggesting that the Sa'ad crude extracts with PHA is stronger immunomodulator than the same extracts but without PHA.

Fourth: Study the effect of Sa'ad crude extracts on chromosomal profile of two human cancer cell lines (Hep-2, RD) before and after treating with three (hexane, water, ethanol) crude extracts by three concentrations (15.62 , 125, 500µg/ml) respectively. The result of 15.6µg/ml was no effect or clear changes in chromosomal profile after treating with crude extracts regarding to the control (Before treatment). We estimate the MI of treated and non treated cells (control) of the former cell lines with the same three crude extracts. The result showed, the MI in treated cells was less than control, so in Hep-2 the MI was (Hexane 24.3%,Water 23.8%,Ethanol 30.5%) with regard to control 43.7%, and in RD the MI was (Hexane 31.5%,Water 35.2%,Ethanol 40.4%) with regard to control 58.2%. This suggested a confirmation about the cytotoxic effect of each crude extract on cancer cell lines. And with (125 and 500µg/ml) was no result due to the high cytotoxic effect of each two concentrations.

The effect of green and black Tea extracts on different cell lines *in vitro*

Omar F. Saeed; Nabel M. Jawad; Nahi Y. Yaseen

In the present study aqueous extraction was performed on both green and black tea leaves then confirmation with conventional qualitative chemical tests providing the green green tea tea following groups of extracts; Gl (green tea polyphones); G2 (green tea terpenoids);B1 (black tea polyphenols) and B2 (black tea terpenoids).

Median lethal dose for G1 and B1 extracts were evaluated in female balb/ c mice. The results were 5.356 and more than 5g/kg body weight for Gl and Bl respectively.

Anew modified method was established for reading the color density of cell lines stained with crystal violet at 492nm as indicator of cell growth. This modified method seems to be as sensitive as the original one.

The growth inhibition of G1,G2, b1 and B2 extracts after 3 days exposure to serially diluted concentrations starting from 1000 µg /ml to 0 ug/ml (control), on murine mammary adenocarcinoma (AMN3), human rhabdomyosarcoma (RD) and human larynx carcinoma (Hep-2) cell lines were assessed. The results highly significant inhibition of each of the extract on the three types of cell lines and the response of each cell line was also different in a highly significant manner from cell line to another. The median inhibitory concentration (lC-50) in AMN3 cell line was ~255 and 419 µg/ml for G1 and B1 respectively on the other hand the values for G2 and B2 were ~252and 675 ug/ml respectively. Ln case of RD cell line the lC-50 for G1 and B1 were ~114 and l89 ug/ml respectively, and ~254 and 255 ug/ml for G2 and B2 respectively. The lC_50 for Hep-2 cell line were ~341 and 323 µg/ml for G1 and B1 respectively while the results for G2 and B2 were ~284 and 305ug/ml respectively. In case of normal mouse embryo fibroblast cell line, G1and B1 didn't affect the growth after three days of exposure to similar concentrations tested on AMN3, RD and Hep-2 cell lines

Cytogenetic test for cell lines treated by G1 and B1extracts at doses 1000,500 and 250 ug/ml after three days of exposure revealed no metaphases to be in detected.

In conclusion four distinct groups of extracts from green and black tea were extracted. Polyphones from green and black tea revealed broad margin of safety in mice. All groups of extracts undoubtedly showed significant growth inhibition of cell lines AMN3, RD and Hep-2. Yet green tea polyphones were almost more potent in growth inhibition than black tea polyphenols on AMN3 and RD cell lines. While Hep-2 cell line showed stronger growth inhibition with black tea polyphenols than green tea polyphenols. On the other hand green tea terpenoids were more potent in growth inhibition on AMN3 and Hep-2 cell lines than black tea terpenoids and the growth inhibition on RD cell line was similar. Interestingly G1 and B1 extracts showed selectivity in that they didn’t affect the growth of normal mouse embryo fibroblast cell line.

Effect of some Local plants extracts on normal and cancer cells (*in vitro*)

Jehan F. Ashraf; Khlood Al-Sammeraie; Nahi Y. Yaseen

The research period started from April 2002 to February 2004 and continued several axles. The aim of the present study is to investigate the anti- microbial, anti- tumor, cytogenetic and cytotoxic effects of three herb medical plants extracts. The plants used were dried leaves of (*Cueurbita maxima, Cucurbita pepo*), dried roots of (*Zingher offecinale*) and dried seeds of (*Peganun harmala*). The plants extracts have inhibitory effect on cancer cell (Hep-2 and RD) and some points were investigated as following:-

1. The plants extracts have a good anti- bacterial activity against the gram positive and gram negative bacteria which including *E. coli*, *S. aureuse*, *P. aurogenosa* in different concentrations (0.5, 1, 5, 10) mg\ml.
2. The toxicity of the plant extracts was determined in human peripheral lymphocyte using four concentrations of the extracts (1, 10, 100, and 1000) µg/ml for three days. Short- term assay (MTT) was employed. There was no toxic effect of the plants extracts on human lymphocyte cells.
3. Some plants extracts which were extracted by (hexane, chloroform and methanol) from *Cueurbita maxima*, *Cucurbita pepo*, *Zingher offecinale* and *Peganun harmala* and the inhibitory effects of six different concentrations (0.1, 1, 10, 100, 1000, 10000) µg/ml was investigated on human cancer cells Hep-2 and RD by using Neutral red assay.
4. The hexane, chloroform, and methanol extracts of *Cueurbita maxima*, *Cucurbita pepo, Zingher offecinale* (100, 250, 500) µg/ml and *Peganun harmala* in their ideal concentrations (25, 50, 100) µg/ml, showed the inhibitory effect of spontaneous chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges formation in the peripheral blood lymphocyte cells.
5. The results showed that the ideal concentrations of different plant extracts have a good protective activity. Increasing the mitotic band index, replicative index and cell cycle progression activity depicted this.
6. The results showed that the mutagenic effect of the anticancer drug (MTX) was increased as the concentration was gradually increases. Therefore, the concentrations (50, 25 and 10) µg/ml respectively was

used in the experiments. The optimal time for effect of the drug was 24 hrs. The toxic and mutagenic effects of the drug included reducing the mitotic index, replicative index and the cell cycle progression peripheral blood lymphocyte cells, increasing the chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges.

Effect of crude extracts of *Salvia triloba* L. f. on Neoplastic, Transformed and Normal cell line

Abdallah I. Saleh; Badry A. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen

The search for novel anticancer drugs continues. Agents that can eliminate the cancerous cells but do not affect the normal cells may have a therapeutic advantage for the elimination of cancer cells. This work includes a preliminary study of the effect of two crude extracts of Greek or Mediterranean sage (*Salvia triloba* L.f.) on three malignant human cell lines, one malignant murine cell line, two transformed cell lines and two normal cell lines.

A boiling-water extract and a methanolic extract were prepared from dried leaves of *S. triloba*. Yields of extraction were 9.8 and 22.4%, respectively.

Tested cell lines included human larynx epidermoid carcinoma (HEp-2), human rhabdomyosarcoma (RD), human glioblastoma multiforme (AMGM5), murine mammary adenocarcinoma (AMN3), African green monkey kidney cells (Vero), murine L cells (fibroblasts) expressing the human poliovirus receptor (L20B), normal mouse embryo fibroblasts (MEF8) and normal rat embryo fibroblasts (REF3).

Both extracts exhibited time-dependent, cell specific inhibitory effects on HEp-2, RD and AMN3 malignant cell lines. AMGM5 cell line was resistant to the effects of either extract as inhibition could only be recorded after 72 hrs of exposure to the highest concentrations, 625 and 1250 μg/ml. In addition, growth of HEp-2, RD and AMN3 cells under treatment with either extract was biphasic during the first 48 hrs of treatment as cells were stimulated at lower concentrations and inhibited at higher concentrations.

The aqueous and methanolic extracts showed less inhibitory effects on transformed cells, Vero and L20B, compared with their effects on vi

malignant cell lines including the most resistant cells, AMGM5, indicative of the safety both extracts towards kidney cells and non-malignant cells, respectively.

Both extracts produced little inhibitory effects on normal MEF8 and REF3 cell lines, an indication of the specificity of both extracts against malignant cells.

Finally, the aqueous and methanolic extracts of *S. triloba* showed immunomodulatory effects when tested on human peripheral blood lymphocytes.

Effect of *Ficus carica* latex on mammary adenocarcinoma implanted in mice and cancer cell lines *in vitro*

Bassem Abdul-Hussein; Khaleel H. Zenad; Nahi Y. Yaseen

This study shed the light upon *Ficus carica* latex from many aspects. This first aspect included the study of material toxicity on cancer cell lines cultured in vitro which tested on two cancer cell lines which are Hep-2, AMN3 with different time of exposure (24, 48 hrs.) and using two fold dilution. The results were read by using neutral red stain and the ratio of absorbance of stain was measured by using ELISA. The results were analyzed by using analysis of variance on level ($P< 0.05$) which was for Hep-2 as follow.

The concentration 312.5 µg up to high concentration show significant difference as compared with control group after 24 hr. of inoculation while the concentrations 78.2 up to high concentrations show significant difference from control group after 48 hr. of inoculation while the line AMN3 results revealed that the concentration 156.3 µg up to high concentration show significant difference as compared with control group after 24 hr. while the concentration 78.2 µg up to high concentrations show significant difference from control group after 48 hr. of inoculation.

The second aspect included the study of the toxic effect of the material in mice where the minimal lethal dose was calculated after injection of material intro peritoneal which equal to 30 mg\ kg body weight, then 4 dilutions from the material were doing (5, 4, 3, 1) mg\ kg body weight

which tested on 4 groups of mice, every group was injected by one of these concentration intra peritoneal by 0.2 ml\ dose\ day for 30 days, then the animals were killed and the gross lesions were checked. There were inflammatory signs, congestion, intestinal petechial hemorrhage, renal and hepatic congestion and splenomegaly with different of intensity among groups. The histopathological study also done for these formerly mentioned organs which showed hepatic and renal blood vessels congestion, degeneration and necrosis of epithelial lining renal tubes and hepatocyte, dilettanti as ell as accumulation of hemosidrin stain in spleen.

The tired aspect aimed to study of remedy effect of the material on memory gland carcinoma in mice. The mice have successful tumor growth on were classified into 3 groups injected with the same dose which is 5 mg\ kg body weight intra tumor and the second group intra peritoneal and the last lifted as control group. The injection continues for 15 days. The size of tumor was measured along this period. Sample were obtained for histopathological study and the results were analyzed by using analysis of variance where show presence of significant difference between the two treated groups and control group on the level ($P< 0.05$).

The tumor size inhibiter ratio was 65.7% for the intratumor injected group and 59% for intraperidonially injection group. The histopathological examination started presence of areas of necrosis, hemorrhage, and edema inflammatory cell infiltration in intra tumor injection group and, less extent in intra peridinially injection group.

The fourth aspect compares the effect of the material with phttohemagglutinin and colchicin on human lymphocytes which were cultured in ratio by doing 6 of two fold dilutions of material (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25) µg/ml of culture medium. The concentration 125 up to high concentrations of material toxic effect on lymphocytes while mitotic index for (31.25 and 62.5) were 0.13% ,0.2% respectively and lymph oblasts index for two previous concentration equal to 15%, 18% respectively which was less than that for PHA where the mitotic index was equal to 0.6 and lymphoblasts index was 35%. As it is concerned with the second part of study, the material does not act like colchicin and for all concentrations used in this study which were equal to sane concentrations which were used when to be compared with PHA.

Effect of crude extract of *Artemisia herba alba* on cancer cells growth inhibition *in vitro* and treatment of Transplanted tumor in mice

Ahmed H. Abood; Khaleel H. Zenad; Nahi Y. Yaseen

The present study was carried out to evaluate the cytotoxic effects of aqueous (AE) and ethanolic (EE) extracts of *Artemisia herba alba* on human laryngeal carcinoma (Hep-2) cell line and murine mammary adenocarcinoma (AMN-3) cell line *in vitro*. Also to evaluate the effects of both extracts on several cytogenetic parameters such as mitotic index, blast index, sister chromatid exchange/cell, cell cycle progression and replicative index after culturing of peripheral blood lymphocytes *in vitro*.

This study represents the first attempt to use the AE of the plant as anticancer agent when the tumor-bearing mice treated with different doses of the AE.

Two parameters were used to evaluate the anticancer activity of the AE, these are growth inhibition percentage (GI %) and relative tumor volume (RTV %). The preliminary step to detect the therapeutic doses that used in the treatment of transplanted murine mammary adenocarcinoma in mice was determination of LD50 in mice. They were (0.5, 0.25 and 0.125 g/kg), administered by two different routes, intraperitoneal and per os.

The *in vitro* cell growth assay showed that there were time- and concentration-dependant cytotoxic effects of both extracts on the tested cell lines. The results revealed that high significant effect of all concentrations of both extracts were achieved after 72 hrs of exposure, while the exposure of cell lines for 24 hrs showed significant effect on both cell lines only with highest concentration. The values of cell viability (%) revealed time-dependant significant effects. There was increasing cytotoxic effect proportional to concentrations of both extracts.

The cytological study performed simultaneously with cell growth assay, revealed that there was concentration-dependant cytological changes like patchy growth inhibition, loss of confluent feature and cellular degeneration after exposure to lowest concentrations (156.25 and 312.5 µg/ml). The early findings of cytolysis were seen after exposure to 625 µg/ml. While the highest concentrations (1250, 2500 and 5000 µg/ml) caused severe growth

inhibition with marked cytolytic features including loss of cellular outlines, large numbers of dead cells and high content of cellular debris.

The results of *in vivo* study indicate high effectiveness of AE in reducing the tumor volume in a dose- and time-dependant manner. The best effective dose was 0.5 g/kg when administered intraperitoneally or orally.

The comparison of relative tumor volumes of different groups revealed high significant differences between all treated groups and those of untreated (control) groups.

Coincidently, the histopathological changes in treated and untreated tumor masses showed that necrosis and fibrosis were the predominant features occurring with the advanced time of treatment proportional to the reduction in tumor volume. In advanced time of treatment, there were only few islands of tumor tissue sequestered by massive mature fibrous tissue.

The results of cytogenetic study showed good antiproliferative, antimutagenic effects of AE and EE. The results showed significant decrease of mitosis and blast cells formation in AE and EE-treated groups proportional to the concentration. There was a high significant decrease in the average of sister chromatid exchange/cell particularly after treatment of lymphocytes with high concentrations of both extracts. The results of cell cycle progression and replicative index supported the other cytogenetic results, that indicating the lowering effect of both extracts on both parameters.

In conclusion, the results of this study revealed the high cytotoxic effect of *Artemisia herba alba* extracts on Hep-2 and AMN-3 cell lines *in vitro*, wide safety ranges of AE in mice, high anticancer effect of AE when used in treatment of transplanted tumor in mice as well as antimitotic and antimutagenic effect on human peripheral blood lymphocytes *in vitro*.

Study the effect of some crud & pure *Nerium oleander* leaves extractions on the normal cells and cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*

Raghad DH. Abdul-Jalill; Abdul-Azieze M. Al-Kubasy; Nahi Y. Yaseen

Thirty two active components analyzed from the different crud extractions of leaves, twenty eight from different crud stems extractions, and thirty six from different crud flowers extractions were also analyzed. Some of these components are diagnosis as: Oleaside E, Odorside A, Glucosylnerigoside, Nerigoside, Oleandrin, Adynerin, Olaside A.

Different results found in cytotoxic assay of crude extracts & oleandrin on human lymphocyte *in vitro*. The non cytotoxic concentrations of methanolic extraction were: 0.01µg/mll. The concentration below it shows significance induction on mitotic index and blast index of human lymphocytes but all of higher concentration shows significance reduction on them. This biological phenomenon is called Hormetic effect or Hormesis. The non cytotoxic concentrations of acitonitrial and methelin chlorid system solvent extractions were: 1µg/ml, 0.1µg/ml and 0.01µg/ml. The non cytotoxic concentrations of aquatic extraction were: 1µg/ml, 0.1µg/ml and 0.01µg/ml and whole lower concentrations within (1, 48, 72 hr.) exposure time respectively. All of the higher concentration of these three crude extractions shows significance reduction on mitotic index and blast index of human lymphocytes. The results revealed the inhibitory effect of it by different concentration of oleandrin after (48, 72 hr.) exposure time. Hormesis phenomenon, also, had seen when exposed oleandrin to peripheral blood lymphocytes after one hour exposure time characterized by low dose stimulation, high dose inhibition of mitotic index and blast index significance. The non cytotoxic concentration was 5µg/ml.

Studying the effect of crude extracts & oleandrin on human lymphocyte without mitogen (PHA) in different exposure time shows no mitosis. Using different crude extracts & oleandrin in replacement of colchicin shows some mitotic cell with high significance comparison with control.

Positive effect were found in CCP by different concentration of methanolic extraction within (1, 48, hr.) exposure time and RI was arise. The higher and medium concentrations perform increased SCE significantly while the lower concentrations resulted decreased of it after (1, 48, hr.)

exposure time. This Positive effect in CCP and RI was disappeared when we elongate the exposure time to 72 hr. SCE was significantly increased by the higher concentrations whereas the lower concentrations resulted decreased of it in the same exposure time.

All concentrations of acetonitril show improved CCP, increased RI significantly at (48, 72 hr.) exposure time but there were different significance changes in SCE depending on concentration and exposure time. In 1 hr. exposure time, there was decreased of SCE by different concentrations while the higher and medium concentrations of extractions raise SCE within 48 hr. exposure time. The lower concentrations resulted decreased of its spontaneous level in the same exposure time.

The aquatic extraction and oleandrin showed different positive effect. They were improved CCP, increased RI significantly at (1, 48, 72 hr.) exposure time by all concentrations. There was significantly decreased of SCE at the time when used different concentrations within 1 hr. exposure time. There were no significance changes in SCE when we used lowered and medium concentrations of aquatic extraction and oleandrin at (48, 72 hr.) exposure times while the high concentrations shows increased of SCE significantly.

The cytotoxic assay of crude extractions & oleandrin on two cancer cell lines was studied. The result is a clear cytotoxic activity of those crude extractions & oleandrin with high significances in Hep-2, AMN-3 cancer cell lines during the two exposure time. CC_{50} of methanol, acetonitril and aqueous extraction alone was; 14 ng/ml, 5.5ng/ml and 21.5 ng/ml of Hep-2 and: 19.5 ng/ml, 7 ng/ml, 21.5 ng/m to AMN-3 successively within 1 hr. These CC_{50} was greatly decrease when arise the exposure time to 72 hr., therefore there was difference significances between them. CC_{50} of oleandrin was 57picog/ml and 750 picog/ml in Hep-2 & AMN-3 successively within 1 hr. The result suggested that Hep-2 cell line the most sensitive cancer cell line to most of crude extracts & oleandrin.

Using a mixture of methanol and aqueous crud extractions or methanol and acetonitril crud extractions show reduction of CC_{50} through (48, 72 hr.) exposure time comparison with extractions without mixing.

Microscopic examination of cell line treated with the lower concentrations of crud extractions and oleandrin show large cytotoxic through (48, 72 hr.) exposure time, appear event different changes in morphology of cell line. The effect of crude extractions & oleandrin on chromosomal profile of human cancer cell line (Hep-2) before treating with

different concentrations exhibited a clear Hypotripolidy (64 chromosomes). There was no mitosis cell when we treated cell line (Hep-2) with low concentrations of extractions within 1 hr.

In the first *in vivo* experiment, LD_{50} of aqueous, methanol, acetonitril and oleandrin were 168.43 mg / kg, 206.11 mg / kg, 211.68 mg / kg and 21.525 µg / kg.

Crud extractions and oleandrin were further used for treatment of mice bearing murine mammary adenocarcinoma system by 3 doses per extractions. Complete regression was seen in 100% of treated mice with the high and medium doses of aqueous extraction while the low doses show partial reduction with 82.54 % growth inhibition. The result indicate that there was complete regression was noted in 100 % of treated mice by high doses of methanol extraction. The low dose exhibit partial reduction with 58.74 % growth inhibition. Reduction by the medium dose was 68.612 %. Complete regression was noted in 96.2 % of treated mice by medium doses of acitonitrial extraction. The low dose demonstrates partial reduction with 54.915 % growth inhibition. Reduction by the medium dose was 62.303 %. All treated groups in those experiments showed prolong in surviving. Moreover, this study showed different changes of adult mice weigh depending on doses.

The histopathology examination of treated tumor by high & medium doses of extractions show fibrous connective tissue surrounding the remainder of mammary adenocarcinoma gland filtering with large amount of mononuclear cells and basophile. Lowe doses demonstrate large central necrosis inside malignant mammary adenocarcinoma surrounding by fibrous connective tissue filtering with mononuclear cells and basophile.

Histopathology examination of treated tumor by low & medium doses of oleandrin shows area of necrosis while the high doses show large area of necrosis with mononuclear cells and basophile. None treated tumor shows strong condensation of malignant mammary adenocarcenoma cell so that it block off asini of mammary gland adenocarcenoma. No effect has been seen in other organs (heart, kidney and liver) of treated mice with low & high doses of crud extractions & oleandrin. While the liver tissue treated with high doses show bulkiness of liver cell which it recovered liver sinosaet and in another place it seems to be active, occurrence grades of necrosis cell that located around central liver vein, filtering with mononuclear cells around it. Kidney cortical shows hemorrhage from kidney artery with congestion of it

in another place and filtering with mononuclear cells. This feature of histopathological examination was similar in almost experiments.

This study showed that the crud extractions of *Nerium oleander* and oleandrin might be promise therapy for cancer; they are safe to use in adult mice. The therapeutic doses of aqueous crud extractions was non cytotoxic to boon marrow cells in mice because there was no significance changes in mitotic index, blast index, sister chromatid exchanges, replicative index and cell cycle regressions.

Hormesis effect had seen by oleandrin & acitonitrial extractions time characterized by low dose stimulation, high dose inhibition of MI, BI, CCP, RI, significantly. In contrast, low dose inhibition, high dose stimulation of C.A, SCE. Different concentrations of methanolic extraction were stimulation MI, BI, CCP, RI, significantly but there was stimulation of C.A, SCE.

Histopathology examination shows no effect in organs (heart, kidney and liver) of normal mice with therapeutic dose of crud extractions & oleandrin.

Study of the effect of crude extracts from *Salix acmophylla* on cancer cell lines and Human Normal Lymphocyte *in vitro*

Azhaar M. Jaffer; Hadi R. Hasan; Nahi Y. Yaseen

This project was explorer to study the activity of secondary metabolites in *Salix acmophylla* crude extracts on the malignant cells growth (*in vitro*) and study its effect on human lymphocytes.

This study included the preparation of fresh extracts for two main parts of this plant (Bark and Leaves) by using two types of solvents, distilled water and absolute ethanol. The results from leaves were 20% for L1 and 16% for L2 and from bark is 6% for B1 and 4% for B2. The active compounds of the extracts were assessed by using the chemical tests and the result showed that acompound *contains* Glycosides, Tannins, Saponines and Flavonoides, but there is no Alkaloids, Terpenes and Steroids.

The action of these crude extracts of *S. acmophylla* was assessed on cancer cell lines (HEP-2 AND AMN-3) and on normal cells of (REF) using seven concentrations (1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.6 µg / ml)

through three examination period (24, 48, and 72 hrs) for cancer cell lines and 72 hrs only for normal cell line of rat embryo (REF) with three exposure time.

The result is a clear cytotoxic activity of these crude extracts with high significances in a tow cancer cell lines during the three exposure time, suggesting that the cytotoxic effect of those crude extracts is a dose and time dependent, but in (REF) cell lines, there is no significant effect of those crude extracts reported.

The water extract was found to be the most effective especially on the cell lines (HEP-2) while on (AMN-3) cell lines the ethanol extract was more effective. It was non- significant differences were defected when comparing the action of the leaves and the bark on these cell lines.

On the other hand the inhibition action of these *Salix* extracts were examined on normal lymphocyte using the same seven concentration by counting the percentage of mitotic index and blastotic index in which L1,L2,B1,B2 show no significant effect on MI and BI in low concentration, but show significant effect on high concentration comparing with the control group.

Two experiments were conducted also to know if these extract have a mitogine, or have anti-mitogenic effects, these extracts have no significant effect in both cases.

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

Likaa H. Sagban; Hadi R. Hasan; Nahi Y. Yaseen

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).

Study of the anticancer effects of *Olea europea* Leaves crude extracts (*in vitro* & *in vivo* study)

Hamid N. Ubied; Jabbar Y. Al-Miah; Nahi Y. Yaseen

Cancer is a growing health problem coming next to the cardiovascular diseases regarding the morbidity and mortality with some international geographical variation according to the its type.

Conventional therapies had limited benefits as treatment of cancer due to their resistance, toxicities, and relapse problems, therefore researches are necessary to find alternative effective, safe and inexpensive therapies.

Plants play an important role as a source of many anticancer drugs, so screening of others types may reveal a new valuable drug of minimal side effects.

For this purpose this study was designed to evaluate the anticancer effects of the cold aqueous (CAE), hot aqueous (HAE) and Ethanolic extract (EE) of the *Olea europea*- OE (Al-Zaitoon or Olive) on cancer cell lines as

in vitro and in vivo study. All the experiments of this study were performed in the laboratories of the Iraqi centre for cancer and medical genetics research (ICCMGR) at the years 2005-2006.

The in vitro study concerning with the evaluation of the growth inhibitory effects of these extracts on cultured cell lines, which they were Hep-2 (Human epidermoid Laryngeal carcinoma) and AMN-3 (Murine mammary adenocarcinoma) in comparison with the same effects on MEF (mouse embryo fibroblast) as a normal cell line at 24-hours, 48-hr, and 72-hr in a microtitration plate under complete sterile conditions.

Eight concentrations of two fold dilution of each extract were prepared and tested on each cell line, which were mentioned above, starting from 5000 µ.ml ending with 39. µ.ml with three replicates for each concentration and duration of exposures for the treatment and control samples.

After the end of exposure of each cell lines to any extract, the microtitration plates were washed and treated by crystal violet stain and the optical density of the plate wells were read by the Elisa reader at 495 η.m. The results were representing the optical density of the cell growth at each well.

The three extracts show concentration and time dependence growth inhibitory effects, and the highest effect was obtained at higher concentrations after 48 hr. and 72 hr. of cell lines exposures, in comparison to the control group.

Cold aqueous extract has growth inhibitory effect on AMN-3 cell line at all the concentration and duration of exposures, and growth inhibitory effects on Hep-2 cell line at only high concentrations and durations of exposure. Cold aqueous extract, as well as the hot and Ethanolic extract, had no growth inhibitory effects on normal mouse embryo- fibroblast cell line (MEF) so it has no cytotoxic effects toward the normal cell in the presence of its growth inhibitory effects against the cancer cells.

CAE had the lowest GI^{50} (the concentration that inhibits cell growth by 50%) so, it was more effective than the other extracts.

Hot and Ethanolic extracts of olive leaves have had growth inhibitory effects on these cell lines, less significantly than the effects of cold aqueous extracts.

The *in vivo* study designed to evaluate the anticancer effects of the three types of the extracts on the AM-3(Murine mammary adenocarcinoma) cancer resulted from subcutaneous inoculation of the cancer cells in the shoulder region of the mice.

After daily subcutaneous injection of 30 mg/kg/b.w of each extract for duration of thrty days, the tumour dimensions were measured every six days and their volumes were calculated, as a parameter for the comparison between the control and treatments groups.

Significantly, the cold aqueous extract slow the rate of tumour growth volumes at 30 Mg\Kg\B.w, but it did not inhibit its progression in comparison to the hot and Ethanolic extract were the effect were less significant.

After 30 days (duration of the experiment) of the first day of the treatment, the animals of CAE and the control groups were sacrificed and send for histopathological study.

Cross sections of the tumour, lung, and livers of these groups of animal were studied and interpreted for the histopathological differences between the treatment and control group.

There were apparent inflammatory cellular infiltration in the cross sections of the tumours in the treatment group, in comparison to that of the control group where it was very little , indicating that CAE have had enhancing effect on the cellular immunological response versus the overwhelming effects of the cancer, as chronic disease.

Also there was no metastasis was seen in the cross section of lungs and livers among the animal group treated by CAE.

On the other hand, there was one case of tumour metastasis in the lung of one of five animals (20%) of the control group, which indicate that the CAE may have antimetastatic effects in the treatment group, which it is very important therapeutic result.

Grossly, the surface of the tumours of the animals treated by cold aqueous extract, were free from the secondary complications associated with tumour growth dynamics, where redness, ulceration, and necrosis due to local tumour metastasis was recorded in the animal of the control group after about three weeks of the beginning of the measurements of the tumour volume till the last day of the experiment.

LD^{50} was tested for the CAE in mice, but there were no toxic effects and no death have been observed, beside that there were no cytotoxic effects of O.E extracts against the normal mouse embryofibroblast in the *in vitro* study, supporting the idea, that the olive leaves is a safe medicinal source.

Study the effect of Alcoholic extract of *Withania somnifera* Dun in experimentally implanted mammary adenocarcinoma in mice

Sahar D. Toma; Kamel F. Khazal; Shalal M. Hussien

The objective of this project were to study the effect of 70% alcoholic extract of the leaves of *Withania somnifera* Dun, on the growth of transplanted mammary adenocarcinoma (AMN3) in mice and the histopathological changes in the tumor mass and organs of treated animals.

The experiment included the preparation of 70% alcoholic extraction of the plant, with a resultant yield of extract 8.3% from 100 gm of leaves. Fifty mice were used forty of them were implanted by mammary adenocarcinoma, and the other ten mice remained not implanted (normal). Implanted mice were divided in to four groups(ten in each), two of them were treated by alcoholic extract of the plant, administrated by two routes one of them intraperitonally (I\ P)and the other orally at dose 500 mg\kg of body weight for 30 days two groups. The other two groups were given polyethylene glycol (solvent substance of the plant) also in two different routes (I\ P and orally).

Two equations were used to measure the tumor volume (TV) and the percentage of growth inhibition (GI %) to evaluate anticancer activity of the plant. The results of the study indicated high effectiveness of the plant in killing or inhibiting the growth of cancer cells and reeducating the tumor volume in advance time of treatment.

The experimental results showed that the effect of the extract caused significant change ($p < 0.05$) in reduced tumor volume and there were no significant changes between the two routes of treatment (I\ P and orally). Also there was significant change ($p < 0.05$) in growth inhibition percentage for the two routes of treatments by alcoholic extract in treated groups.

The histopathological changes showed areas of necrosis surrounded by fibrous connective tissue and inflammatory cells in the tumor masses, with mild degenerative changes in liver, kidney and spleen. The liver showed minimal vacillation of cytoplasm of hepatocytes, while the degenerative changes of kidneys were represented by swelling of epithelial cells lining the proximal convoluted tubules with dilation of Bowman space. Spleen

showed (splenomegaly) due to hyperplasia of white pulp and congestion of red pulp with presence of megakaryocyte indicating extramedullary hematopoiesis.

In conclusion the extract showed inhibitory effect in experimentally induced mammary adenocarcinoma in mice because the plant included active compounds that stopped cell division by affecting the protein and DNA synthesis or stimulating the immunity system through affecting the infiltrations of phagocytes, lymphocytes and secretions of lytic enzymes.

The role of Rhubarb (*Rheum ribes*) and Thyme (*Thymus syriacus*) aqueous extracts in the inhibition of mutagenic effects of Gemcitabine and the carcinogenic effects of 7, 12-DMBA male albino mice (Mus musculus)

Karim J. Karim; Bushra M. Amin; Nahi Y. Yaseen

The present study has shed a light on the antimutagenic effects of aqueous extracts of *Rheum ribes* (rhubarb) and *thymus syriacus* (thyme) against mutagenic effects of gemcitabine and their anticarcinogenic effects against 7,12-DMBA. In order to reach the research goals the following experiment were designed:

1- Testing of mutagenic effects of anticancer drug gemcitabine and the two aqueous extracts of *Rheum ribes* roots and *Thymus syracus* leaves in male albino mice depending on cytogenetic assays which represented by chromosomal aberrations, micronucleus test and mitotic index in bone marrow cells, in addition to sperm morphology test of treated male mice.

2- Testing of antimutagenic or protective roles of the two extracts of *Rheum ribes* roots and *Thymus syriacus* dried leaves against mutagenic effects of gemcitabine by using the above mentioned assays and recording interaction effects between gemcitabine and plant extracts with respect to three kinds of treatments (pre, post, and simultaneous treatment with gemcitabine) in order to reach plausible explanations for the antimuagenic mechanism (s) of the plant extracts.

3- Chemoprevtive effects of both plant extracts 7, 12-DMBA induced skin papillomas in male albino mice with the concentrations used for rhubarb were 1% and 5% and 5% and 7.5% for the thyme via drinking water for 25 weeks respectively.

4- The lnhibitory role of the aqueous extracts of *Rheum ribes* end *Thymus syriacus* on skin papillomas of male mice induced by 7, 12-DMBA.

Results showed that gemcitabine induced chromosomal aberrations, micronucleus formations and decreased mitotic activity in bone marrow mice cells.ln addition, the drug increased the frequency of misshapen sperms after 35 days of treatment.

The root extract of *Rheum ribes* had no significant clastogenic effect on bone marrow cells of the male albino mice when given orally at concentrations 100 and 150 mg\ kg body weight, but enhanced sperm anomalies significantly at concentration 150 mg\ kg body weights.

It is found that Thymus syriacus extract had no clastogenic action in bone marrow cell of the animals that treated orally, except the concentration 200 mg\ kg body weight showed significant elevation on total abonormal metaphases. Thyme extract had significant effect on total abnormal sperms while show no significant effect on kinds of misshapen sperms.

The results revealed that both plant extracts at concentration (100 mg\ kg body weight) exhibited a strong antimutagenic effect against gemcitabine (15 mg\ kg body weight) clastogenic action on bone marrow cells and sperm abnormalities pretreatment and simultaneous treatment, rhubarb extract showed strong protective effect when given together with the drug, whereas thyme extract showed highest protective action when given pre and simultaneous treatment with the drug, which means that both extracts considered as dermatogens.

Both plant extracts showed significant reduction in the number of mouse with papillomas (incidence) and the numbers of papillomas per mouse (multiplicity) induced by 7, 12-DMBA, which indicate that, both plants contains chomopreventive agents.

Rhubarb and thyme extracts showed non-significant reduction in the percentage of papillomas inhibition produced by 7, 12-DMBA. *Rheum ribes* inhibited 33.5% while Thymus syriacus 38.1% inhibition in tumor multiplicity.

Histological inuvestigations indicated that rhubarb extract reduced spuamous papillomas and stimulated hair follicle proliferations. Thyme extracts also reduced squamous papillomas.

Over all the results high light the potential of Thymus syriacus leaves and Rheum ribes as a safe, antimutagenic and effective chemopreventive agents skin cancers, which may provide the lead for the development of antitumor agents.

Study of pathological, immunological and cytogenetic effect of crud extract of *Urtica dioica* on cancer cells *in vitro* and treatment of transplanted tumor in albino mice

Eman H. Yousif; Talib A. Makkawi; Nahi Y. Yaseen

The aim of this study was to evaluate the cytotoxic effect of *Urtica dioica* extracts (aqueous and ethanolic) on normal and cancer cells *in vitro* and *in vivo* by using many parameters. The preparation of both extracts was performed. There parameters included the evaluation of cytotoxic effects of aqueous (AE) and ethanolic (EE) extracts of *Urtica dioica* on human laryngeal carcinoma (Hep-2) cell line, murine mammary adenocarcinoma (AMN-3) cell line, rat emberyogenic fibroblast (Ref) cell line and brain cancer (B) cell line *in vitro* .In addition for lymphocyte adhesion assay and hemadsorption test for the same of cell lines were carried out as well. The effects of both extracts on several cytogenetic parameters such as mitotic index, blast index, replicate index, cell cycle progressions, chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, nuclear cytotoxic division index ,nuclear division index, micronuclei ratio, nucleoplasmic bridge and nuclear bud after culturing of peripheral blood lymphocytes were studied at all *in vitro*.

Determination of LD50 in mice was performed as preliminary step to detect therapeutic doses that used in the treatment of transplant adenocarcinoma in mice. It was (2.225 g/kg) for both extracts .Also the effect of therapeutic dose on immunological parameters such as on the phagocytosis of killed yeast by macrophages and determination the macrophages migration inhibition factor, and the immediate type hypersensitivity were evaluated.

The *in vitro* cell growth assay showed that there was type, time and concentration- dependant cytotoxic effect of both extracts on the tested cell lines. That AMN3 cell line showed sensitivity more than other cell lines while the brain cancer cell line was more resistance. The high concentrations caused severe growth inhibition for the four cell lines, while the low concentrations lead to growth stimulations for both Hep-2 and Ref.However, these concentrations caused inhibition for AMN3 cell line while the inhibition effect on brain cell line appeared just on high concentrations after 24 hrs of exposure and then the cells return their viability. The cytological study performed simultaneously with cell growth assay, revealed that there was concentration-dependant cytological changes like patchy growth inhibition ,loss of confluent feature and cellular degeneration after exposure to lowest concentration(0.01,0.1 µg/ml).The early finding of cytolysis were seen after exposure to (10,100 µg/ml). While the highest concentration (1000, 10000 µg/ml) caused severe growth inhibition with marked cytolytic features including loss of cellular outline and high content of cellular debris. In lymphocyte adhesion assay and hemadsorption test the plant extracts gave carbohydrate binding properties that affect the cancer cell line for binding with lymphocytes and erythrocyte. The effect of extracts on mitotic index, blast index, replicate index, cell cycle progressions and nuclear division index was based on their concentration in which high concentrations caused significant inhibitions ($P<0.05$) for these parameters and the severe toxicity was appeared with the highest concentration while the low concentrations stimulated the ability of lymphocytes for transforming and replication by the presence of (PHA) mitogen.

The effect of both extracts on the cytogenetic parameters in mice didn't differ from what gain by human lymphocytes *in vitro* for the same parameters that the effect depended upon the doses ,the high doses caused significant inhibition ($P<0.05$), while the low doses stimulated the ability of cells for transforming and division for both extracts. These results supported the results in human lymphocytes as a laboratory system model *in vitro* and for the hormoetic effect of plant. Therapeutic dose (0.01 mg/kg bw), for both extracts stimulated the activity of immune cells that it caused increasing in phagocytic activity for macrophages in addition it was stimulating it for production of macrophages migration inhibiting factor .And also it was

supporting cell mediate immunity by skin test with their effect on stimulating lymphocytes replication and division.

The histopathological study showed no toxic abnormal changes in all studying organs treated with low doses while abnormal toxic changes were seen in all organs at the higher doses, in both extracts .These changes were characterized by hyperplastic changes in mucosa of stomach and intestine and fibrosis of submucosa, also focal lymphocytic aggregation was noted in both of the liver and kidney. The lung gave the abnormal changes which characterized by thicking of alveolar walls and infiltration of mononuclear cells especially alveolar macrophages. There are several number of lutinized follicles in ovary which means there was an estrogenic effect, and there was suppression of lymphoid follicle in the spleen .This study showed that this plant has a cytotoxic effect that the extracts caused inhibition growth for the mammary gland adenocarcinoma (AM3) in low doses, while the high doses caused a toxic effect in the animal. The cancer cells stimulated for proliferation and metastasis for bone marrow, several number of metastasized cancer cells were detected in the bone marrow of mice by cytogenetic analysis and also they were detected in the lungs of mice treated with the high dose of the aqueous extract by the histopathological study. The treatment with the therapeutic dose (0.01 mg/ kg) gave high tumor growth inhibition percentages for both extracts (aqueous and ethanolic) which it reached 94.3,94.4% in mice treated before the time of tumor transplantation, while the percentages of treatment at the same time of transplantation were reached 98.2 , 99.1 % and it reached for 99.0,99.4% in mice treated after tumor transplantation. The histopathological changes of these treated groups showed wide necrotic area with very few number of cancer cells and infiltration of inflammatory cells surrounded by fibrous connective tissue .While in control group(untreated group) and the groups treated with toxic doses, there were sold masses of highly proliferation malignant cells which less differentiated and there was central necrotic area which appear smaller than in treated animal groups in addition for the presence of slight inflammatory cells.

Study the effect of crude extracts of fruits and seeds of date palm (*Phoenix dactylifera* cultivar Zahdi) on some cancer cell lines *in vitro* and treatment of transplanted mammary adenocarcinoma in mice

Yasir H. Zaidan; Badry A. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen

This work represented a preliminary study of the effect of crude extracts of date palm (*Phoenix dactylifera* cultivar. Zahdi) fruits and seeds on two malignant cell lines (human laryngeal carcinoma-Hep2 and murine mammary adenocarcinoma-AMN3) and one normal cell line (rat embryo fibroblast-REF). Also this study included evaluation of the effect of these extracts on several cytogenetic parameters such as mitotic index (MI %), blast index (BI%) and chromosomal aberration (CA) after *in vitro* culture of peripheral blood lymphocytes. This work also included study of the therapeutic potential of two extracts, one from fruits and the other from seeds in the treatment of transplanted murine mammary adenocarcinoma in mice.

Aqueous and ethanolic extraction of the date palm fruits gave extracts with a yield of 24.33% and 14.2%, respectively. While the seeds gave extracts with a yield of 7.4% and 13.6% from aqueous and ethanolic extraction, respectively. The hexanic extract of seed was pale yellowish-green oil with pleasant odour with a yield of 4.1 ml/100gm. The extraction of fruits by hexane didn't give any yield.

The chemical tests of aqueous extracts of date palm fruits and seeds detected flavonoids, glycosides, resins, tannins and terpenes. Moreover the ethanolic extracts of fruits and seeds were found to contain alkaloids. The hexanic extract of seeds gave positive tests with steroids and terpenes only.

The *in vitro* cell growth assay showed that there was a time- and concentration-dependent cytotoxic effect of crude extracts of date palm fruits and seeds on Hep2 and AMN3 cell lines. The highest significant effect of these extracts was achieved after 72 hrs of exposure with highest concentration (10000 µg/ml). Both aqueous extract of fruits (AF) and ethanolic extract of seeds (ES) caused growth inhibition percentage (76.3%, 89.4%) for Hep2 and (84.1%, 93.4%) for AMN3, respectively. However, 72 hrs exposures to crude extracts of fruits and seeds at

concentration of 10000 µg/ml caused slightly inhibitory effect on REF cell line, reached 21.1% and 17.7% for AF and ES, respectively.

In general, the percentage of cell viability of all cell lines was inhibited after exposure to all crude extracts in a time- and concentration-dependent manner, although, the lowest concentration of aqueous extract of seeds showed significant increment in the cell viability of Hep2 after 24 and 48 hrs exposure indicating to hormetic effect.

On the other hand, all crude extracts of fruits and seeds caused significant reduction in the mitotic index and blast index of peripheral human lymphocytes, but without any structural or numerical chromosomal aberration. Also these extracts neither replaced phytohemagglutinin (PHA) as mitogenic agents, nor colcemid as mitotic arresting agents at metaphase.

The therapeutic doses of both AF and ES were determined according to LD50 in mice. The results indicated high effectiveness of both extracts in a dose- and time-dependent manner. The highest therapeutic doses of AF and ES (1.2 and 1 gm/kg B.wt., respectively) showed the best therapeutic effect by reducing the tumor volume in mice to about 73.9% and 83.8%, respectively.

The comparison of relative tumor volumes of different groups revealed highly significant differences among all treated groups and those of untreated (control) group.

In conclusion, the results of this study revealed that AF and ES possessed high cytotoxic effect on cancerous cell lines and slight inhibitory effect on normal cell line indicating the specificity of both extracts against malignant cells. Both extracts also revealed wide safety range in healthy mice and high antitumor effect when used in treatment of transplanted tumor in mice.

Study the *in vitro* and *in vivo* effect of alcoholic extract of *Withania Somnifera* dun roots on cancer cell line and experimentally induced mammary Aden carcinoma in mice

Azal H. Juma'ah; Kamel F. Khazal; Shalal M. Hussien

The objectives of this project was to study the effect of different concentration of alcoholic extraction of the root of withania somnifera Dun, on the growth of AMN3 cancer cell line in vitro and study the effect of the extract on the growth of transplanted mammary Adenocarcinoma AM3 in mice. The study also includes comparison of the effect of the extract and Cyclophosphamide together and Cyclophosphamide alone.

Four experiments were performed to achieve the objective of this study.

Experiment one was performed to extract the roots of withania somnifera with 70% alcoholic extract; the yield of extraction was 5%.

Experiment two was performed to study the effect of different concentration of extract on in vitro growth of AMN3 cancer cell line; the results showed the extract produced an inhibitory effect of cell line at concentration 31µg/ml after incubation period of (72, 48, and 24) hr.

Experiment three was performed on mice to study the acute toxicity of oral administration of the extract by using Up & Down method of different doses ranged between (1000-5000) mg/kg B.W.The results showed the administration of such doses didn't show any toxic effect up to 5000 mg/kg B.W.

Experiment four was performed to study the in vivo effect of alcoholic extract of the root of withania somnifera Dun alone or in combination with Cyclophosphamide; thirty five mice Mice were experimentally inoculated with mammary Adenocarcinoma (AM3) Mice were divided into equal five groups.

Group one treated orally with 300 mg/kg B.W alcoholic extract daily for 21 days.

Group two treated with 3 mg/kg B.W Cyclophosphamide intraperitoneally daily for 21 days.

Group three treated with alcoholic extract orally and Cyclophosphamide intraperitoneally daily for 21 days.

Group four treated with the (poly ethyline glycol-400) 30% (vehicle) daily for 21 days.

Group five infected mice none treated.

Group six none infected mice none treated.

The inhibitory effect of the extract on tumor mass volume was monitored every three days.

The results of group one and three showed significance inhibition ($P<0.001$) of tumor mass volume as compared to the positive control (group four).

The results of group two showed significance inhibition ($P<0.01$) of tumor mass volume as compared to the positive control (group five).

The inhibitory effect of the treatment of group one and three was more significantly than treatment in group two.

The survival time percentage of the mice in group one was 100% after 60 days of treatment, whereas the survival percentage of the mice in group two at same period was 60%.

The histopathological changes of tumor mass in mice of group one and three showed large area of necrosis surrounded by fibrous connective tissue and inflammatory cell

Whereas the tumor mass in mice of group two showed smaller area of necrosis as compared with the area in the mice of group one and three

Liver, kidney of all mice in groups showed a slight degenerative change.

The histopathological results of spleen in the mice of groups one and three showed stimulation of the white bulb which indicated increase the formation of leukocytes (T-cell) whereas the spleen in group two and controls groups (group four and five). Didn't show such stimulation in white bulb.

In conclusion the alcoholic extract of the roots of withania somnifera showed a promising result as anti cancer medical plant. The plant caused a significance inhibitory effect on the experimentally induce adinocarcinoma in mice

The inhibitory effect is better what was obtained from using a full therapeutic dose of cyclophosphamide alone.

The extract gives a good inhibitory effect as combination with half therapeutic dose of Cyclophosphamide.

These results encourage further studies of using the extract in combination with other anticancer agents in different species. Moreover the plant extract is safe after oral administration, since it showed an LD50 of 5000 mg/kg B.W.

Study the effect of some crud & pure *Nerium oleander* leaves extractions on the normal cells and cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*

Raghad H. Taha; Nabel K. Al-Ani; Nahi Y. Yaseen

This project considered as an explorer for *in vitro* and *in vivo* studies on the production of some secondary metabolites from local medical plants, named *Melia azedarach*; study their effect on cancer cell lines (*In vitro*) and on human lymphocyte. This study included the following:-

First: - Three kinds of sterilization solutions were applied for shoot tips as explants. The first one was sodium hypochlorite (NaOCl) as sterilization material. The best concentration was 1% for 1.5 minute. The second solution was mercury chloride ($HgCl_2$), the best concentration was 0.05% for half min. The third sterilizer was ethanol (C2H5OH). The survival concentration was 2.5% for 0.5 min.

Second: - Callus was induced from shoot tip and maintained on MS medium supplemented with 1.5 mg/l kinetin and 2.5 mg/l 2, 4-D. Dark incubation was the best to induce and formation of callus.

Third: - Primary indicators for chemical secondary metabolites groups were used to identify the chemical compounds exist in vegetative and callus obtained from shoot tip *M. azedarach*.

Fourth: - Preparation of two crude extracts (for both vegetative and callus parts) by two types of solvents (n-Hexane and distilled water). The percentage and type of extract varied according to the solvent, polarity and extraction method.

Fifth:- Study the cytotoxic activity of different concentrations of crude extracts (156.25, 78.1, 39, 19.5, 9.7 and 4.8 µg/ml) and (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6},10^{-7} and 10^{-8} µg/ml) on two cancer cell lines (Hep-2 and AMN-3) with three exposure times (24, 48 and 72 hr.), also on normal cell line (REF) with one exposure time (72hr). Results revealed a significant cytotoxic activity of the crude extracts in the two cancer cell lines during the three exposure time, but in (REF) cell line, was no significant effect of those crude extracts was reported. These results suggest that the active compounds of *M. azedarach* may posses some specificity in cytotoxcicity on cancer cells rather than normal cells. As for callus crude extracts with Hexane and Water; the best cytotoxic activity concentration on Hep-2 cell line were with 9.7µg/ml and

10^{-6} µg/ml respectively. This result also showed that cancer cell line Hep-2 was more sensitive to all *M. azedarach* crude extracts, than AMN-3 cell line.

Sixth: - The immune effect of *M. azedarach* crude extracts on human lymphocyte with and without mitogen (PHA) at exposure time 72 hour. Without PHA the result was revealed the numbers of lymphocyte became decreased after exposure to those extracts. This result suggests that those crude extracts did not have immunomodulatory effect on lymphocyte division. With PHA the result is immunomodulatory effect but with a synergistic effect of those crude extracts with PHA in form of increase the immunomodulatory effect, suggesting that the *M. azedarach* crude extracts with PHA is stronger immunomodulator than the same extracts but without PHA. Also it has been study the effect of *M. azedarach* crude extracts on human lymphocyte with and without Colchicines in exposure time 72 hour. The results revealed that the different plant extracts did not have anti-mitotic property.

Cytotoxic and Cytogenetic Effects of Crude Extracts of *Capparis spinosa* L. on Tumour Cell Lines *in vitro* and *in vivo*

Asaad Abdul-Wahed Bader; Nahi Y. Yaseen

This study was carried out to evaluate the cytotoxic effects of aqueous (A), methanolic (M), and hexane (H) extracts (Es) of root (R), leaves (L), and flower buds (F.B) of *Capparis spinosa* L. on murine mammary adenocarcinoma (AMN3), Human Larynx carcinoma (Hep-2) tumor cell lines and normal rat embryo fibroblast (REF3) cell line in vitro. The evaluation also included the effects of aqueous and methanolic root extractson mitotic index (MI), and damage cells, after estimation the cytotoxic concentration CC50% of each effective extract.

This study was an attempt to investigate the antitumor effect of root extracts (A and M) on Mus musculus Balb\c mice injected with AMN3 tumor cell line (after, at the same time, and prior) of the tumor cell injection. The effects of these extracts on the weight of the treated mice, liver and kidney were studied. Cytogenetic parameters such as M.I, blast index (B.I),

damage cells in female mice, and mutagenic efface (as indicated by sperm head abnormalities) in male mice were also examined.

The preliminary step to detect the therapeutic doses used in the treatment of mice injected with AMN3 tumor cell line, was the determination of lethal doses 50 (LD50) in mice. The LD50 was 4.00 and 6.60 gm\kg for A. and M.R.Es respectively. The doses which were chosen for treatment were: 0.4, 0.2 and 0.1 gm\kg for A.R.E., whereas those for M.R.E. were: 0.66, 0.33 and 0.165 gm\ kg.

The results of in vitro AMN3 cell growth assay have showed that the CC50% of A., and M.R. Es were 546.89 µg/ml and 1250.00 µg/ml, respectively after 48 hrs. treatment, whereas H.R.E had CC50 value > 10000 µg/ml after 48 hrs. treatment. Statistical analysis revealed that A.R.E. was more potent acts against AMN3 tumor cell line growth. This effect was concentration- dependant, but not time- dependant.

The effect of A.R.E on the growth of Hep-2 cell line has presented CC50 value of 2500 µg/ml after 72 hrs. Treatment. On the other hand, each of M. and H.E showed CC50 value > 10000 µg/ml after 72 hrs. Statistical analysis revealed that the efficiency of A. Es against the growth of AMN3 tumor cell line was more than Hep-2 cell line.

The CC50% of all R. Es (A., M. AND H.) were > 10000 µg/ml for the tested REF3 cell line. Statistically, all extracts used were ineffective on the growth of REF3 cell line. On the other hand, all type of L. Es. (A., M. AND H.) gave CC50 value > 10000 µg/ml on growth of AMN3 cell line. All these types of extracts were found to have non significant effect on the growth of AMN3 cell line.

All L. Es. Were inffective on the growth of Hep-2 tumor cell line except A.L.E. after 72 hrs. Treatment, it showed CC50 value of 6666.67 µg/ml after 72 hrs. Treatment. Statistical analysis of the results revealed that A.L.E. was most effective against the growth of Hep-2 cell line after 72 hrs. treatment as compared with M. and H.R.ES.

The results have shown that all types of L.ES. (A., M. and H.) Were presented CC50 value > 10000 µg/ml. Moreover, all types of tested cell lines were inffective after treatment with F.B.Es.

The cytogenetic study for AMN3 and REF3 cell lines has showed that A. and M.R.E. exerted their effects to reduce the M.I. in AMN3 cells and was concentration dependant. IN both treated and untreated AMN3 cells with A. and M.R.Es., numerical and structural chromosomal aberrations (Damaged cells) were found. The numerical chromosome aberrations include:

eneupliody, tetraploidy and octoploidy, whereas the structural abnormalities included ring chromosome (R.Ch.), one gap and one triradial, dicentric chromosome (D.C.Ch.), and chromosome break with fragment (Ch.B.W.F.).

Non significant decreases were found in M.I. and Damaged cell percentage values between treated and untreated REF3 cell line with each of A. and M.R.Es. The chromosomal aberrations observed in REF3 treated cell with M.R.Es. Included; chromatid break (C.B.), (R.Ch.), (D.C.Ch.), whereas those treated with A.R.E. included R.Ch., D.C.Ch. and C.B., with small number of symmetrical interchange of chromosomes of equal length (S.I.Ch.).

The results have indicated that 0.4 mg\kg b.w. A.R.E. has the ability to reduce the tumor volume (Tu.V.) in mice those treated with extract at the same time of AMN3 cells injection than others types of exposure, whereas the highly growth inhibition percentage (G.I.%) occurred in mice treated with extract 15 days a prior to AMN3 cells injection. However, both types cell exposure to 0.66 gm\kg b.w. M.R.E at the the same time and prior to the AMN3 cells injection have exhibited similar ability to reduce Tu.V., and this ability was more than for exposure type after AMN3 cells injection. Moreover highly G.I. % was detected in mice treated with M.R.E prior to the AMN3 cell injection.

All the highly effective concentrations of A.R.E. against the growth of AMN3 in vivo were significantly ineffective on the weight of treated mice till the end of experiment, except mice treated with 0.4 mg\kg b.w. A.R.E. After AMN3 injection revealed significant increases in their weight.

The tumor masses isolated from mice treated with A. or M.R.E. have revealed some feature differ from those found in control positive mice especially in the type of exposure (at the same time of AMN3 injection). The masses were surrounded by prominent fibrosis and chronic inflammation and evidence of some sort of immunity.

The results have showed that the mice treated with higher concentrations of A.R.E. (0.4 and 0.2 gm\kg b.w.) and 0.66 gm\kg b.w. of M.R.Es. have revealed decrease in both M.I. and B.I. Aqueous R.E. in all concentarations showed the same ability to increases the danaged cells, while M.R.E concentarations were inffective on damaged cell percentage as compare to control positive. The chromosomal aberrations (R.Ch., A.Ch. and D.D.Ch.) were observed.

The results have indicated that each of A. and M.R.Es. was mutagenic agent by using sperm heads abnormalities assay.

The effect of crude alcoholic extracted for the Seed and Leaves of *Apium graveolens* Var. dulce in the mammary gland adenocarcinomas in female albino mice

Marwa A. Hussein; Rassmiya H. Murad; Shalal M. Hussien

The present study aims at studying the therapeutic efficiency of different doses of two of crude alcoholic extracted 95% which are prepared from the seed and leaves of *Apium graveolens* var. dulce in laboratory female Albino mice Balb\c which have Mammary Adenocarcinomas.

The ethanolic extracted of the seeds and leaves of *Apium graveolens* produced 9.816%, 13.232%; while the methanolic extracted produced 10.268% respectively, also, the seeds produced an oily extracted which was brown- yellow, viscous nature and tasty, while the leaves produced an oily extracted which was very dark green, viscous in nature and testy.

It is found through the deductive test of the chemical groups of these extracted that the ethanolic extracted of the seeds of *Apium graveolens* contained Tannines, Flavonoides, Phenolics and Glycosides; whereas the methanolic extracted of the leaves contained Saponines, Resines, Alkaloides, Terpenes and Coumarines. In regard to the leaves, the ethanolic extracted showed positive results for all the tests, while the methanolic extracted showed positive results except the saponine.

Also, by using the method of High- Performance Liquid Chromatography (HPLC), the components of the aromatic essential oil and the fixed essential oil are examined. It is found that there were 14 compounds of the aromatic oil in the seeds of *Apium graveolens*. When they are compared with the standard aromatic essential oil used in HPLC; they were (a-pinene, Cineole, P-cymeme, Terpinene, a- phellandrene, B- pinene, Geraneole, terpinole, Linalool, Menthone, Limonene, Myrcene, Camphen, Rutin). a- pinene compound had the highest concentration, which was (19.2 mg\ml); while camphen compound had the lowest concentration, which was (6.3 mg\ml).

When the aromatic oil of the leaves of *Apium graveolens* is tested, the results showed that there were 24 compounds, They were (Sabinene, a-Tujene, a- pinene, Sabinene, B pinine, Mircene, p-cymene, Limonene, cis-ocimene, trans-ocimene, G- Terpinene, linalool, cis-limonene oxide, trans-ilimonene oxide, transcarveol, trans-carvylacetate, B- caryophyllene, B- Selinene, a- Selinene, caryophyllene oxide,

3-n-butylphthalide, Sedanolide, cis-sedanolide, trans-sedanolide). Cis-sedanolide compound had the highest concentration, which was (45.41 mg\ml); while the G-Terpinene compound had the lowest concentration, which was (26.00 mg\ml).

The therapeutic doses of the crude ethanolic, methanolic, ethanolic-methanolic extracted of the seeds and leaves according to their tissue, physiological and the therapeutic effects. The therapeutic experiments proved that these crude extracted of *Apium graveolens* have high efficiency of shortening the size of tumor according to the used doses of them, the period of taking the doses, the bind of the extracted and the used part of the plant. The medium therapeutic doses of (500 mg\kg) were the best in the effect in relation to its shortening the size of the tumor in mice. When the relative size of the tumor is compared with different therapeutic groups, the results showed a clarification of highly significant differences between these groups and the control group.

The crude alcoholic extracted of the leaves of the *Apium graveolens* proved to be more efficient against tumor than the crude alcoholic extracted of the seeds of *Apium graveolens*, Also all the groups of mice, which were treated by the crude alcoholic extracted of the seeds and leaves of *Apium graveolens* showed prolonged life incomparision with the control group.

Farther, the results of the study showed a significant decrease ($p < 0.05$) in the weights of the animals used in the experiments and given the doses of the plant crude extracted (ethanolic, methanolic, ethanolic-methanolic) with their successive doses through the mouth for thirty days.

The microscopic examination of the mammary adenocarcinomas transplanted in female albino mice and treated by crude alcoholic extracted of the seeds and leaves of *Apium graveolens* showed that there were many foci of necrosis in the tumor cells which were distinguished by losing their specific pigment, loss of nuclei and self destruction so as to have very clear existence of a large number of apoptotic bodies; in addition to the infiltration of inflammatory cells which showed degeneration in its early stages. Also, there was isolation of the unhurt tumor cell in the shape of speeded small foci which were surrounded by thick tissue capsule and infiltrated by the monocytes and inflammatory cells especially the macrophage and lymphocyte. Besides, there was bleeding from the congested blood vessels, while the microscopic examination of the mammary adenocarcinomas transplanted in female albino mice of the

control group showed that there were a large number of malignant cells whose nuclei had different shapes of mitosis.

Also, the results of the study showed that the using of plant extracted was safe when it was given through the mouth, that is, no clinical signs appeared to indicate poisonous effects of the different crude alcoholic extracted of the seeds or leaves of *Apium graveolens.* When they were given gradual doses (250-6000 mg\kg) of the weight of the body through the mouth; therefore, it is considered a safe plant.

The quantitative determination of the estrogen E2, Progesterone P: and Follicle Stimulating Hormones FSH in the serums of Albino mice used in the experiments and treated by crude alcoholic extracted 95% of the seeds and leaves of *Apium graveolens* that there was a significant increase in the concentration of estrogen of different kinds of the extracted in comparison with the values of the coefficient of the control group, that is the study recoded a significant increase of the concentration of estrogen; it was the highest in the mice which was administrated by the methanolic extracted 95%, then it was less in the mice which was administrated by the ethanolic extracted and it was the least in the mice which was administrated by the crude ethanolic –methanolic extracted of the seeds of *Apium graveolens;* while the increase of the concentration of estrogen of different crude alcoholic extracted in the leaves of *Apium graveolens* was the highest than the extracted of the seeds and it was less concentration in the mice which was administrated by the methanolic extracted 95%, then it was the least in the mice which was administrated by the crude ethanolic- methanolic extracted in the leaves of *Apium graveolens* in comparison with the values of the control group.

Further, the plant extracted created a significant increase of the concentration of progesterone; the statistics recorded that the concentration of progesterone was the highest in the mice which was administrated by the methanolic extracted 95%, then it was less in the mice which was administrated by the ethanolic extracted 95%, and the least in the mice which was administrated by the crude ethanolic- methanolic extracted in the seeds of *Apium graveolens* whereas, a significant increase in the concentration of progesterone was recorded in the leaves of *Apium graveolens* as follows: it was the highest in the mice which was administrated by the crude ethanolic extracted 95%, then it was less in the mice which was administrated by the methanolic extracted 95%, and the

least in the mice which was administrated by the crude ethanolic-methanolic extracted comparison with the coefficient of control group.

The study also proved that there was a significant increase of the concentration of the follicle stimulating hormone FSH whose greatest concentration in the mice which was administrated by the crude ethanolic-methanolic for the seeds of *Apium graveolens*, it was less in the mice which was administrated by the methanolic extracted 95% of the seeds, and it was less in the mice which was administrated by the methanolic extracted 95% of the leaves of *Apium graveolens* in comparison with the concentrations of the coefficient of the control group. While, the results recorded a significant decrease of the FSH in the mice which was administrated by the crude ethanolic extracted of the seeds and leaves of *Apium graveolens* a highest decrease, it was less in the mice which was administrated by the crude ethanolic- methanolic extracted of the leaves of *Apium graveolens*, in comparison with the concentration in the control group.

Cytotoxic and cytogenetic effects of Local Rhubarb (*Rheum ribes* L.) crude extracts on normal and cancer cells *in vitro*

Haja J. Hedayet; Nadhum J. Ismaiel; Nahi Y. Yaseen

The present study was carried out to evaluate the cytotoxic effects of aqueous (AE) and ethanolic (EE) crude extracts of root of *Rheum ribes* L. on two malignant cell lines Human Laryngeal Carcinoma (Hep-2) cell line and Murine Mammary Adenocarcinoma (AMN3) cell line, and one normal cell line of Rat Embryo Fibroblast (REF3). The study also included the investigation of the mutagenic and antimutagenic effect of the aqueous crude extract of R.ribes L. against the mutagen Mitomycin C by using two cytogenetic parameters such as mitotic index, chromosome aberration after the culturing of peripheral blood lymphocytes *in vitro*.

The aqueous crude extract was found to be a more effective antiproliferate agent than the ethanolic extract. Aqueous extract exhibited time- dependent cytotoxic effects on Hep-2 malignant cell line after the exposure of 24, 48 and 72 hrs. While AMN3 malignant cell line and REF3 normal cell line showed less response to both extracts, the inhibition could

only be recorded after 48 and 72 hrs. of exposure to the higher concentration (500 or 1000 µg/ml). However, ethanolic crude extract exhibited time-dependent cytotoxic effects at all concentrations after the exposure of 72 hrs. on Hep-2 cell line and at high concentration (500 or 1000 µg/ml) on AMN3 and REF3 cell lines. The cytotoxic effects of both extracts started at lowest concentration on Hep-2 cell line after 72 hrs. of exposure while safe toward normal cell line REF3.

Study cytotoxic and cytogenetic effects of Flaxseed crude extracts on some cancer cell lines

Ashraf N. Saad; Abdul-Zahra K. Mohammed; Nahi Y. Yaseen

While researches are continuous in order to get new cancer therapies, plants extracts, that kill cancer cells, raises as suspected therapies to get rid of these malignant cells, and this work considered as a primary screening study that focus on the effect of Flaxseed crude extracts on some cancer cell lines in vitro, and human lymphocytes, which considered as normal cells in addition to its function as an immunological cells.

This study includes preparation of three types of Flaxseed crude extracts by using different solvents, oily, aqueous and crude lignan, in which its extraction required a group of different solvents and alcohols.

Cytotoxicity assay, for evaluation the activity of these extracts is done on three human cell lines Hep-2, RD and Hela cells, by using eight concentrations (7.81, 15.62, 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000) µg/ml for each extract, and for 24, 48 and 72hrs. of exposure time.

Results show a gradually cytotoxic effect of extracts on the growth of these cell lines, with dose and time dependent manner for all types of these cell lines.

Some differences of the effect among these extracts according to the type of cell line and the extracts itself, through the estimation of cytotoxic concentration that kills 50% of cells (CC50) for each extract and cell type, we found that aqueous extract was the most potent cytotoxic extracts for these cancer cell lines, followed by crude lignan extract, and crude oily extract respectively. Hela cells were the most sensitive type of cell lines to these extracts, followed by RD and Hep-2 finally.

Some cytogenetic tests were done, to detect the mechanism in which these extracts shows there effect on cell lines, through the study of chromosome morphology and mitotic index of Hep-2 and RD cell lines.

No variations were shown in chromosome morphology of these cell lines after treatment with extracts because of the great numerical and structural abnormalities in its chromosomes, but the mitotic index was decreased after treatment with the extracts.

Human blood lymphocytes, the first two extracts show an inhibitory effect on the mitotic index (MI) and Blastogenic index (BI) of human peripheral blood lymphocytes in ratios varied according to the type of extract, with effect on the chromosomal morphology of these cells, but the high concentration crude extracts were highly toxic to these cells.

Effect of crude extract *Silybum marianum* L. seeds on cancer and normal cell lines

Israa S. Salmman; Mohammed Abdul-Hadi Gali; Nahi Y. Yaseen

This project is considered as explorer study for the activity of compounds in local plant, of plant named (*Silybum marianum L.*) as crude form, and its effect on cancer cell lines (*in vitro*). Also studying the effect of these compounds on human lymphocytes division, and its use mitogenic or antimitotic or as arrested of division. The study includes the following:

1. Preparation of three crude extracts the plant seeds using two methods of extraction: The first method is soaking and stirring by using two solvents, distilled water, and ethanol alcohol to obtain aqueous and ethanolic extracts. The second method is squeezing to obtain fixed oils. The extraction ratio differed, among different solvent and reach in aqueous, ethanolic and oily (11.46%, 6.86% and 15.10%) respectively.
2. Study the cytotoxic activity of the prepared extracts, on cancer cell lines (Human Larynx epidermoid carcinoma (Hep-2), Rhabdomyo sarcoma (RD) and Ahmed-Mohammad-Nahi-2003 (AMN-3)) and normal cell line (Rat embryo fibroblast (REF)) in ten concentrations (0.1, 1, 2.5, 5, 10, 100, 250, 500, 1000, 10000 microgm / ml), within three exposure times (24, 48, 72) hours , and normal cell line with one exposure time (72) hrs. The results showed significant a clear cytotoxic activity of these

crude extracts, in three cancer lines. It is noticed that, the cytotoxic effect increased according to concentration and time of exposure in aqueous and ethanolic alcohol extract. In case the oily extract, the effect of cells affected by time of exposure, these led to significant decrease in the percentage of viability of the cells, while the moderate concentration lead to significant increase. While there was no significant effect in growth the normal cell line in the same extract treatment. Therefore it maybe there are metabolic compound for *Silybum marianum* some specialization in the cytotoxic effect in growth of cancer and abnormal cell. Also it has been found that the only extract of this plant is the best and efficient effect on the cancer cell lines.

3. The results showed there were no cytotoxic effect on lymphocytes growth and also these extracts showed no significant difference as mitogenic on arresting for mitosis when compared to control.

Effect of Crude watery extract of Pomegranate pericarp (*Punica granatum*) on cancer cell line *in vitro* and in mice

Aseel Y. Kadhim; Muhanad M. Nori; Shalal M. Hussien

This study was carried out to recognize the effect of the most important component in the pericarp of *Punica granatum* fruit which is known as Crude Ellagic Acid. The cytotoxic effect of this extract has been investigated in some of tumor cell lines including murine mammary glands carcinoma (AMN3) and epithelial cell carcinoma of human larynx (Hep-2) in comparison to Rat embryonic fibroblast cell line (Ref), as well as human lymphocyte by using tissue culture technique (*in vitro)*. Additionally, the toxic effect of Crude Ellagic Acid extract has been tested *in vivo* to determine the LD50 in normal mice, and the therapeutic effect in tumor –in planted mice.

The qualitative chemical analysis showed that Crude Ellagic Acid extracted contain Glycosides, Tannin, and Flavonoid while Steroid, Terpen, and Alkaloid were absent.

Cytotoxicity assay of this study demonstrated that Crude Ellagic Acid caused inhibitory effect on the growth of all cell lines particularly at a concentration of 700 µg /ml and incubation period (72 hour) .at this

condition the percent of growth inhibition of each of Hep-2, AMN3, and Ref were 56.64% ,59.27% ,32% respectively .however ,this extract caused gradually inhibition on the human lymphocyte culture after (72hour) exposure in respect to Mitotic Index and Blast Index particularly at concentration 600 µg / ml which caused completely inhibition 100% in these parameter .

On the other hand this study showed intermediate toxicity of Crude Ellagic Acid extract in normal laboratory mice in respect to LD50 which was 935.25 mg/kg .while the result of therapeutic experiments in tumor bearing mice showed reduction in tumor volume about 61.8% in those treated with the higher dose of Crude Ellagic Acid extract (93.525 mg/kg), and 97.4% in those treated with lower dose (46.762 mg/kg) after 5 weeks from the onset of the treatment. Moreover histopathological study of the tumor mass at the end experiment indicated necrosis in the tumor mass of high dose –treated mice (93.525 mg/kg), but those treated with low dose (46.762mg/kg) of Crude Ellagic Acid showed infiltration of inflammatory cell in addition to necrosis in their tumor mass .all treated mice with high and low dose of crude Ellagic acid showed no histopathological effect in their internal organs including Liver, Spleen, and Kidney.

Study the Effect of the Polyphenolic Compounds Extracted from Grape Skin Fruit *Vitis vinifera* on Some Cell Lines (*in vitro)*

Zainab Y. Mohammed; Essam F. Al-Jumaily; Nahi Y. Yaseen

This study was conducted with the aim to extract and purify a polyphenolic compound "Resveratrol" from the skin of black grapes *Vitis vinifera* cultivated in Iraq. The partial purified resveratrol is obtained after column chromatography application. The preparative thin layer chemomatography elution yields pure crystals identified as resveratrol (mixture of the two isomers cis and trans) in relation to resveratrol standard trans- resveratrol (35 mg resveratrol crystals / 0.5 kg fresh grape skin obtained as a result of these processes).

Chemical investigations and tests for the identifications carried out for the qualification of extracted crystals yield include: general tests for

polyphenoles, aromatic unsaturated compounds, spectrophotometric scanning for λ_{max} screening, HPLC analysis, FTIR assay and melting point estimation in relation to resveratrol standard for the all applied tests.

The study has also employed an *in vitro* evaluation of the cytotoxic effect of pure and partial purified resveratrol on some cell lines including the murine mammary adenocarcinoma (Ahmed- Mohammed – Nahi-2003, AMN-3) cell line, the human laryngeal carcinoma (Hep-2) cell line and the rat embryo fibroblast (Ref) cell line, at different concentrations and different treatment exposure time.

The partial purified resveratrol extract concentrations ranging (7.81–4000) μg/ml in a twofold serial dilution are used to treat the three types of cell line for 48 and 72 hours intervals. The significant cytotoxic effect resulted from the inhibition of cells growth is estimated in different manners for each cell line.

The pure extracted resveratrol cytotoxic effect is studied in comparison with trans- resveratrol standard concentrations (12.5, 25, 50 and 100) μg/ml for both the extract and standard resveratrol; and also the comparison includes methotrexate drug in concentrations (0.05, 0.1, 0.2 – 0.4) μg/ml toward the growth effects of three types of cell lines and at three exposure times (24, 48 and 72) hours.

The cytotoxic inhibition effects of the pure extracted resveratrol revealed that the high significant ($P< 0.01$) effect of all concentrations is achieved after 24 hours of exposure for both AMN-3 and Ref cell lines. Hep-2 cell line responds to the extracted resveratrol in different manners. Also the comparison indicates that both the pure and partial purified resveratrol have a cytotoxic effect on all cell lines with an observation of the different effects between different concentrations.

The inhibitory effect of the purified extract is more potent than the partially purified. The results of cytogenetic study of the pure extracted resveratrol on the normal human lymphocyte blood cells revealed that the substance reduced significantly the mitotic action of the mitogen (PHA), and appeared to be a potent antimitotic and antiblastic cell formation in dose dependent manner.

Effect of crude extract for stems of *Lactuca serriola* L. plant on cancer and normal cell lines

Iman I. Abdul-Hameed; Abdul-Hakeem A. Al-Abdullah; Nahi Y. Yaseen

This project was planted as exploring study for effectiveness of secondary metabolism compounds of *Lactuca serriola* crude extracts on growth of cancer cells *in vitro.*

Extracts of plant's stems were prepared by using two kinds of solvents (distilled water and absolute methanol). The percentages of aqueous extract of stems was (% 8.08) while percentage of methanol extract was (% 8.2). Latex of this plant was also collected to be used in this study .Effective compounds for the extracts and latex were explored by using preliminary reagents .The result obtained shows that the plant contains (Tannins, Flavonoids, Alkaloids, Terpenes, Resin) as well as (Glycosides) in the crude extracts of the plant's stems , but it was not found in the latex. No indications were found for existence of (Saponins) and (Steroids) in the plant.

Effectiveness of crude extracts and latex for *Lactuca serriola* was tested in cancer cell lines (AMN-3, HEP-2, RD) and natural cells (REF) of eight different concentrations (10000, 5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25, 78.125) µg /ml. The tests were done within three periods of time of exposure (24, 48, 72) hours except for the natural cell line of rat fetus (REF) which was exposed for (72) hours.

The results show existence of clear significant cytotoxic effect for crude extracts and latex on growth of cancer cells within the three periods of time of exposure. It was found that the cytotoxic effect for crude extracts and latex depended on concentration and time period of exposure, and that cytotoxic effect for latex didn't depend on concentration when cancer cell line (AMN-3) treated. It was found also that there was no clear significant cytotoxic effect when natural cells (REF) treated by crude aqueous extract of the stems, and similar finding obtained when treated by latex, but natural cells growth were stimulated at high concentrations. The results show also that there was cytotoxic effect when natural cells treated by crude methanol extract of the stems at concentration (2500) µg /ml and on at higher concentrations.

The Effectiveness of more extract in terms of cytotoxicity on cancer cell lines has been varied depending on types of extract, cancer cell line and concentration.

Influence of Polyphenols Extracts of Green Tea *Camellia sinensis* on the Normal and Cancer Cells Lines *in vivo* and *in vitro*

Mahfoodh A. Umran; Ghazi M. Aziz; Nahi Y. Yaseen

Aqueous and methanolic of polyphenols and trepenoids extractions were obtained from green tea leaves. Process of confirmation were performed with conventional qualitative chemical tests, providing the following group, F_1 (polyphenols 27.6%) and F_2 (trepenoids 3.0%) from dry weight of leaves .Catechins recovery was 67.2% from the original polyphenols (F_1) contents by HPLC.

Results showed that, a single administration of both catechol concentrations (156 and 234 mg/kg) caused decreasing mitotic index (MI), blastogenic index (BI) and increasing micronucleus frequency (MN), catechins treatment due to non significant changes in BI, significant increasing in MI and decreasing in MN, while the combination treatments (catechins and catechol) improved the three cytogentic parameters (MI,BI,MN). In fact a clear effect in mitotic activity and increasing in MN was reveal after Methotrexate (MTX) treatment dependent on the periods of administration, and/or in comparison with negative control. Furthermore, significant differences in mouse serum level of Glutamate oxaloacetic transminase (GOT) and Glutamate pyruvic transminase (GPT) enzymes and creatinine were seen at 156 mg/kg of catechol only, catechins treatment showed un significant induction of GPT, significant differences of GOT and creatinine, while there were un significant induction in both levels of enzymes and creatinine at combination treatments (Continuously). And significant induction of GPT in serum of all groups of animals treated with catechins pre or post catechol administration (pertreatment and posttreatment), and significant induction of GOT at both groups of posttreatment, while a significant induction of GPT, un significant induction

of GOT and creatinine was reported with MTX treatment dependent on periods of administration and in comparison with negative control.

Microscopic study of histopathological changes in spleen of all animals groups treated with catechins showed an immunological stimulation represented in hyper plasia in white puple, extended in splenic nodules, increased in germinal centers, infiltration of megakaryocytes and macrophages, while sever congestion and necrosis of tissue cells was noticed in the spleen of animals treated with MTX and catechol. Only elonged of hepatocytes, glycoprotein accumulation and slightly congestion were observed in the liver of animals treated with catechins (singlally and combinations). Furthermore, no histopathological changes in kidney of all animals treatment were appeared.

The results revealed high reduction of proliferative rate on Hep-2 and AMN-3 83.3% and 75.3% at 31.25 and 62.5 µg/ml of catechins respectively, also, the proliferative rate inhibited 52.2% and 19.1% on brain tumor and REF-3 cells treated with 500 and 250 µg/ml of catechins, respectively, after 72 hr exposure.

The antiproliferative effects on Hep-2, AMN-3 and brain tumor cells were 72.1%, 74.1% and 80.9% at 62.5, 250 and 1000 µM of catechol, respectively, while the proliferative rate of REF-3 was increased more than 100% at concentrations $\geq$250 µM of catechol after 72 hr exposure. In order to reduce the proliferative rate of Hep-2 and AMN-3 cells to about 50% were required increasing of trepenoinds concentrations to (125-250 µg/ml), high reducing of proliferative rate for brain tumor 70.5% was obtained at 1000µg/ml of trepenoids, while the highest antiproliferative rate of REF-3 cells was 17.9% at 62.5µg/ml of trepenoids after 72 hr exposure.

The combination effects of catechol and catechins ranged from 31.25-250 µM and µg/ml caused a reduction in the cell viability of Hep-2 treated with high concentration (125 & 250µg/ml) of catechol depended on catechins concentrations after 72 hr. exposure, followed the reduction of cell viability of AMN-3 depended on catechol concentrations in the present of high concentrations of catechins, on the contrary no effects of catechins in cell viability of brain tumor treated with catechol was reported after 48 and 72 hr exposure, but a potential effects for reducing the cytotoxic effects that was induced by catechol were obtained on REF-3 cell in the present of catechins after 72 hr exposure.

Synergistic effects of induction cytotoxicty of anticancer drugs [Doxorubicin (DOX) and mytomycin-C (MMC)] on tumor cells in

combination with catechins were noticed. The cytotoxic effects was increased 1.9 time and over twiced on Hep-2 and AMN-3 cells pretreated with 31.25 µg/ml of catechins plus 15, and 20 µg/ml of DOX, respectively, while it was twice on brain tumor cells treated with 125 µg/ml of catechins and 10 µg/ml of DOX, but the cytotoxcity effects of DOX on normal cells was reduced in the present of catechins, after 24 hr exposure, in comparison with the cytotoxic effects of the same concentrations of DOX only. Also, the cytotoxic effects increased three or more times on Hep-2 cells pretreated with catechins and 5µg/ml MMC, about doubled on AMN-3 cells pretreated with high concentrations of catechins and 10 µg/ml MMC compaired with cytotoxic effect of the same concentrations of MMC only. While there were positive response to catechins present to reduce the cytotoxic effects of MMC on REF-3 cells.

Effect of Curcumin crude extracts on cancer cell line

Firas S. Al-Taee; Nadia T. Barakat; Teeba H. Jaafer; Khansa R. Al-Saady

Incidence of cancer at different sites may be related to oxidative damage to host genome by genotoxicants. These oxidative actions may be modified by phytochemicals present in foods. The non-nutritive dietary constituents which possess antimutagenic property appear to be promising chemopreventive agents.

There is good evidence that several classes of compounds found in plants exhibit anticarcinogenic effects mediated by a number of different mechanisms. Curcumin is one of the natural plants that have different biological activities and pharmacological actions. In the present study, we investigated the possible antitumor effects of aqueous and ethanolic extracts of curcumin. They were shown to inhibit the *in vitro* proliferation of Hep-2 cell line. These extracts found to be safe when tested on normal cell line; REF (rat embryo fibroblast cell line). These results suggest that the curcumin have an antitumor effect that needs more investigations.

Growth Inhibitory Effect of Cabbage Extracts on Hep-2 Cell line

Shalal M. Hussien; Firas S. Al-Taee; Khansa R. Al-Saady; Nadia T. Barakat; Rasha A. Hussein

Plants are one of the most components of the nature can give valuable benefits for various aspects. Plants then will continue to be extremely important as a source of medicinal agents. The efforts of cancer research centers and researchers have brought about a number of anticancer agents derived from plant. Therefore this project has been planned in order to assess the possible cytotoxic or cancer cell inhibition abilities of Cabbage. They were shown to inhibit the *in vitro* proliferation of Hep-2 cell line. These extracts found to be safe when tested on normal cell line; REF (rat embryo fibroblast cell line). These results suggest that the Cabbage have an antitumor effect that needs more investigations.

Studying Some Biological Effects of Colicins on Normal and Cancer Cells *in Vitro* and *in Vivo*

Hind H. Obaid; Rajwa H. Essa; Nahi Y. Yaseen

This study aimed at investigating the cytotoxic effect of crude, non-bound colicins on normal and cancer cells both *in vitro* and *in vivo*.

First, colicin extracts were prepared from colicin-producing strains of *E.coli* as follows:

1- A total of (50) stool samples were collected from apparently healthy people, *E.coli* were isolated and then diagnosed using biochemical tests and Api 20-E system. Thus, (45) pure isolates of *E.coli* were obtained. Colicin-Producing bacterial strains were detected using cup assay. This revealed 39 (78%) colicin-producing isolates.

2- Four isolates were selected, namely (H_{19}, H_{13}, H_9 and H_5), to extract the crude, non- bound colicins, after inducing by Mitomycin-C. They gave the highest activities (20480, 5120, 10240 and 5120) unit/ml respectively, the highest protein production (5500, 4930, 5850 and 5100) Mg/ml respectively and the largest inhibition zones (15, 15, 18 and 12) mm in diameter respectively.

3- Extracted colicins were sterilized using (10%) chloroform. The best storage temperature was (4)^{o}C, at which the four extracts retained their activity for one year. Finally, extracted colicins were concentrated using saccharose.

Afterwards, cytotoxic effects of colicins (H_{19}, H_{13}, H_9 and H_5) were studied on two axes:

The first axis included a study of cytotoxic effects on normal cells, which in itself included two sides:

1- Study of cytotoxicity of colicins on normal cells *in vitro* using the following parameters:

a- Hemolytic activity on human RBCs.

b- Cytotoxicity towards WBCs.

c- Cytogenetic toxicity of colicins on dividing lymphocytes with regard to MI, BI, CA, RI, CCP and SCE.

d- Effect on function and activity of some immune cells.

The following results were acquired:

- Colicins had no hemolytic activity on human RBCs.
- Cytotoxic effect of colicins on non-stimulated WBCs was dose-dependent. Lower concentrations had no effect on cell viability. Higher conc. reduced viability of WBCs for one hour.
- Non of the studied colicins had mutagenic effect on DNA of dividing human lymphocytes as neither CA nor SCE were increased compared with the negative control ($P>0.05$).
- Effect of colicins on (MI, BI, RI and CCP) was dose-dependent, higher conc. had an inhibitory effect, especially of colicin (H_9). Meanwhile, lower conc. of colicin (H_5) increased transformation of PHA-stimulated cells.
- Colicins, particularly colicins (H_5), increased activity of immune cells. They increased phagocytosis and superoxide ion ($O_2^{\bullet}$) production by Neutrophiles. In addition, ability of T-cells to form rosset shape was increased along with lymphocyte transformation at certain concentrations.

2- Study of toxicity of colicins towards normal cells *in vivo* using white mice using the following parameters:

a- Determination of LD_{50} and external pathological effects on animal.
b- Cytogenetic toxic effects of colicins on murine bone marrow cells.
c- Toxic effects of colicins on liver enzymes activity (GOT, GPT, ALP and ACP) and Creatinin percentage in kidney.
d- Histopathological toxic effects on murine organs, (liver, kidney, spleen and heart).

Results were as follows:

- The most toxic colicin to mice was (H_{13}).
- Effects of colicins on murine bone marrow cells were similar to their effects on human lymphocytes *in vitro*. The effects on (MI, BI, RI and CCP) were dose-dependent. Higher conc. caused significant ($P<0.05$) reduction in these parameters especially those of colicin (H_9). Meanwhile, lower conc. of colicin (H_5) induced transformation and proliferation of bone marrow cells.
- Non of the colicins had toxic mutagenic effects on murine bone marrow cells, confirming results on human lymphocytes.
- Colicins had no negative effect on liver enzymes activity contrary, higher conc., (160) and (200)mg/kg, significantly increased GOT and ALP

activity; whereas GPT and ACP activities were not affected. However, (H_{13}) and (H_9) showed toxic effects towards kidney cells in the form of significant increases in creatinine conc.

- Colicins at high doses, (200) mg/kg, had no toxic effects on the heart, liver and spleen. However, toxic effects were recorded in the kidney in the form of dilatation of renal tubules and presence of proteinous casts.

The second axis included cytotoxic study on tumor cells, which included three aspects:

Firstly- Study of toxicity of colicins on transplanted murine adenocarcinoma (AM_3).

The results showed:

- The four colicins had inhibitory effects on growth of AM_3 cells when injected intratumorally at (200)mg/Kg. Percentages of tumor inhibition were (98.79, 90.45, 90.08 and 88.26) % for colicins (H_{19}, H_{13}, H_9 and H_5), respectively. Intraperitoneal injection caused less inhibition, (57.47, 36.25, 60.26 and 35.25) %, respectively using a daily dose of (200)mg/Kg for a period of (24) days. Histopathological examination of treated tumors revealed the presence of large necrotic areas with few cancer cells as well as huge infiltration of inflammatory cells with the presence of capsule and a thick layer of fibrous tissue. The best colicin used was (H_5) as the animal reached a state of near cure.

Secondly- Study of cytotoxicity of colicins on cancer cell lines; Hep-2, AMN-3, RD and Hela.

- Cytotoxic effect of colicins depended on type of cells, type of colicin used, amount of dose and exposure time.
- Hela cells were the most sensitive followed by RD cells, whereas Hep-2 and AMN-3 cells were the most resistant.
- Higher conc., especially (4000)Mg/ml, of colicins inhibited growth of the four cancer cells. Lower conc., (3.9-62.5)Mg/ml, induced proliferation of Hep-2 and AMN-3 cells, while inhibitory growth of RD and Hela cells of different percentages.

Thirdly- Study of cytotoxicity of colicins on cancer cells from pre-treatment, Acute Myeloid Leukemia (AML) patients, which included:

1- Study of blood samples:

a- Cytotoxicity of colicins on myeloblasts from AML patients.

b- Study the effect of colicins on division of myeloblasts.

c- Effect of colicins on division of lymphocytes from AML patients.
d- Study the activities and immunological functions of cancer and normal blood cells of AML patients.
2- Study of bone marrow samples:
a- Cytotoxicity of colicins on bone marrow cells division.
b- Cytogenetics study for bone marrow cells.

Results showed that:

- Myeloblasts from AML patients were more sensitive to colicins than normal WBCs from healthy peoples. Toxic effect was dose-dependent and exposure time.
- AML cells had the ability to growth in tissue culture media supplemented with (20%) fetal calf serum.
- AML cells had no ability to replication and division or were had very slowly division.
- Lymphocyte cells from AML patients lost the ability to divide with found PHA.
- The Mitotic Index for AML patients cells were very low, for one body was (0.52%), with had significant differences ($P<0.01$) compared with healthy control was (3.26%).
- Blood cells for some AML patients had chromosomal aberrations. The phagocytosis Index for Neutrophile cells from patients were significantly lower than healthy control. T-cells from patients had CD2 marker, also had no differences between them and healthy cells in T-Rosset formation.
- Bone marrow cells from AML patients were resistance to colicins.
- Bone marrow cells from AML patients had CA and SCE, also had the ability to replication and division.

Cytotoxic effect of Pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa* on some human and animal cancer and normal cell lines

Shayma S. Al-Azawi; Lina Abdul-Kareem; Nahi Y. Yaseen

This work was done to study the effect of different concentrations of pyocyanin pigment on the number of cancer cell lines. The pyocyanin dye was extracted and purified using chloroform method, and 0.051 gm of needle like blue crystals were obtained. Pigment source was *P. aeruginosa* bacterium which was isolated from various sources including wounds, UTI, burns, ear infections and others.

The cytotoxic effect of this pigment was observed when three types of cell lines were used, two of them were cancer cell lines human larynx cancer cell line (Hep-2), cervix cancer cell line (Hela) and the third was Rat Embryonic Fibroblast cell line (REF) as a control.

The three cell lines were treated with double fold dilutions of pyocyanin (12.5, 25, 50 and 100 µm/ml) with exposure periods of 6, 12, 24 and 48 hrs. Results indicated that the rate of inhibition was time- dependent in all cell lines and its biggest effect was shown after 24 for all concentrations. No significant cytotoxic differences were detected between cancer cell lines and normal embryonic cell line. It was also noticed that the cell were submitted to Hormesis hypothesis. Cytotoxic concentrations showed variation in value among cell lines according to cell types.

The inhibitory effect of the same previously mentioned concentration of pyocyanin on human lymphocyte was investigated. Lymphocyte were isolated from peripheral human blood, and cultured with and without addition of PHA and exposed to the above concentration for 24 hrs. It was found that these cells also underwent the Hormesis hypothesis, and pyocyanin had dual effect on T lymphocytes, where at low concentrations (12.5 and 25 µg/ml) the dye showed cell proliferation activity whereas at higher concentrations it showed inhibitory effect on T lymphocyte proliferation. The addition of PHA exhibited a synergistic stimulatory effect to the pyocyanin dye in low concentrations.

To test the effect of pyocyanin on genetic material, two tests were carried out. The first was the banding method where there was no proof that the dye affected the DNA, the second was the micronuclei technique which showed

alteration in the genetic material of the T lymphocyte cells exposed to 50 µg/ml of pyocyanin for 24 hrs as compared to control test. The alteration was observed by formation of micronucleus and formation of nucleoplasmic bridge originating from dicentric chromosomes whose centromeres are pulled apart to opposite directions during the anaphase stage.

The cytolytic effect of pyocyanin on human larynx cancer cell line cultured on tissue culture slides was observed after exposing the cells to 50 µg/ml of pyocyanin at intervals of 6, 12, 24 and 48 hrs. Results indicated through the morphological changes of the cells that apoptosis occurred and to a great extent cell necrosis after exposure intervals of 48 hrs.

Investigating the genotoxicity of *Escherichia coli* bacterial extracts

Najah R. Mohammad; Entwan S. Al-Bana; Ismail K. Shubber

This study was concerned to investigate the genotoxicity of bacterial extracts that prepared from *Escherichia coli* bacteria that were isolated from two different types of infections, the first one, include patients suffering from Bladder carcinoma, while the second one were from diarrheagenic calves with colibacikosis infection. Ten isolates (24.4%) of *E. coli* have been isolated from 41 urine sample of bladder carcinoma patients, while fifteen isolates were obtained from diarrheic stool of newborn calves.

Antibiotic sensitivity test was done for isolates of both types, showed similarity between them to most antibiotics used in this test. The percentage of isolates that were resistant to ampicillin were 60% in human and animal isolates, however they were 50% and 60% for cephalixin in both kinds of isolates respectively.

In order t investigate the genotoxicity of bacterial extracts *E. coli* isolates, two kinds of bacterial extracts were prepared from five isolates of this bacteria, three of them represent the human isolates, whereas the other two were belonged to calves. These extracts were: the supernatant of bacterial growth filtrate (SGF), and the supernatant of the ultrasonicated bacteria (SUB). The cytogen- tic analytic tests were used for exploring the genotoxic effect of them on living cells, which have been done in two steps. The first

include using different dilutions (10- ²، 10 -³ and 10-^{4}) of the two extracts, that were inoculated in both, human blood lymphocytes culture, in presence of PHA (phytohemegglutinin), in which Blastogenic Index (B.I.) and Mitotic Index (M.I.) were used as cytogenetic parameter tests *in vitro*, whereas only Mitotic Index for both bone marrow (BM) and spleen (SP) were used when these extracts were injected I.P in mice *in vivo*, at the same time, Phosphate Buffered Saline (PBS) PH 7.2, and Mitomycin- C (0.1 mg\ ml), were inoculated by the same manner to represent the control negative and control positive for these experiments respectively. The results obtained from these treatments revealed significant genotoxic effect of most dilutions of these extracts used to inoculate cells in different routes of injection at the level ($P< 0.05$).

In the second step of these cytogenetic tests only one dilution (10^2- dilution) of these extracts was inoculated in same treatment using the following cytogonetic parameters: Sister Chromatid Exchange (SCE), Cell Cycle Progression (CCP), Replicative Index (R.I.) and Chromosomal Aberrations (CA), when maculated into human lymphocytes culture *in vitro*, and Micronuclei Ratio (MN) and Chromosomal Aberrations(CA), when I.P injected to mice, whereas (SCE) was used when they injected in egg-chick embryos *in vivo*. The results of these tests also showed genotoxicity effects in both kinds of extracts as in the former experiments, when their values were compared to the negative and positive controls values, in which the *E. coli* extracts that isolated from both cases of infections have significant genotoxic effect when used on both biosystems cells, i.e. *in vitro* and *in vivo* systems, and the genotoxic effect of these extracts that was prepared from human bacterial (SGF) isolates were higher, at significant level of probability, than that of calves isolates also there was on significant difference in susceptibility of these cytogenetic tests have been recorded when each of them used in measuring cytogenetic effects in different treatments, except CA test revealed no significant effect of these extracts in any of these experiments.

The results of most treatments used above revealed cooperation between in vitro and in vivo routes of injections.

In the last step of this study, three isolates of *E. coli* bacteria that used in above experiments were choose, two of them were of human origin and the other one was from calves. These isolates were under went plasmidcuring experiment by using acridine oranfe (A0) at concentration of 100 µg/ml. The extracts of these cured bacteria were prepared and injected in the same

manner that was used in the former steps of this study, and cytogenetic analysis of these extracts (SGF, SUB) revealed significant reduction in the genotoxic effect of SGF extract, especially for those prepared from human isolates, compared with the results from the same treatments before curing of their plasmid *in vitro* or *in vivo* studies. This indicates that genes which code to some gradients of these extracts are carried on specific plasmids which were lost after curing process.

A Bacteriological and Immunological study on Pyocin extracted from local isolate of *Pseudomonas aeruginosa* and its effect on cancer cell *in vivo* and *in vitro*

Majeda M. Mitaab; Nidhal Abdul-Mohymen; Nahi Y. Yaseen

One hundred forty–one isolates of *P.aeruginosa* were isolated and identified from 295 swabs which were collected from different clinical sources (burn, wound, ear and urine) at Al-Najaf hospitals and used as a source of pyocin production. Pyocin assay revealed that 33.33 % of the isolates were able to produce pyocin. The efficient pyocin producing strains belong to the common epidemiological type O; 11 was used as a source for pyocin S and the indicator strain belongs to the epidemiological type O; 4.

The induction of pyocin was increased by mitomycin C.The bacterial lysate were brought to 40% of ammonium sulphate saturation and the proteins was precipitated, then the pyocin further purther purified by using two different chromatographic techniques; ion–exchange chromatography with DEAE–cellulose and gel filtration using sephacryl S200. Pyocin activity of the fractions was detected by using the Govan spot testing on indicator stains, or well method. The purity of active fraction was proved by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) The electrophoretic pattern shows a single band, this indicates the purity of oar pyocin and the precision of the extraction method used.

The molecular weight of pyocin was 52.480 Dalton by gel filtration method .The optimum pH for high pyocin activity ranged between 6 to 8 and optimum temperature for pyocin production was 37°C The activity of purified and crude pyocins were completely lost at 60° C after 10 minutes.

The ideal storage temperature of purified pyocin was 4° C and -20° C for crude pyocin. Pyocin preparations were assistant to DNase, RNase and 10% chloroform but sensitive to trypsin, lysozyme, 7M urea and 10% SDS.

The pyocin was effective against some Gram negative bacteria; P. flourecsense, Escherechia coli, klebsiella spp., and Neisseria gonorrhoeae. The pyocin preparation given intraperitonealy in the presence of lethal dose of strain O; introduced by the same rout, refused the fatal come out of infection when treated at the same time of infection but did not prevent the fatal come out of infection when it was treated after 24 hrs of bacterial injection.

Median lethal dose for pyocin preparation, which were evaluated in female mice, were 351 µg /kg and 241 µg /kg body weight for purified and crude pyocin, respectively.

The *in vitro* cell growth assay showed that values of cell viability (%) revealed type cell line, concentration -and time- dependant significant differences. There was a time -and concentration- dependant cytotoxic effect of both pyocin preparations on the tested cell lines. The most potent effects were observed after 72 hrs of exposure of all cell lines to pyocin. AMN3 cell line was the most sensitive followed by Hep-2 cell line, whereas REF cell line is the more resistant.

The results of treatment of transplanted murine mammary adenocarcinoma in mice with two different doses of purified and crude pyocin preparations by two different routes of administration showed inhibitory actions of the bacterial products pyocin on tumor growth. The response to treatment revealed considerable variability in dose and time-dependant manner, as well as the route of administration.

The treated animal with pyocin showed prolonged life up to 30 days while the control groups lived 15-20 days, and the size of tumor reduced significantly in animals treated by intaperitioneal (PI) or intratumor (IT) rout and the best dose was 24 µg/kg of purified pyocin where the relative tumor volume % was significantly decreased in both route treatment groups (IP: 96.2 to 28.96; IT: 91.65 to 34.32) resulting in growth inhibition percentage (GI%) about 98.69, 99.28, respectively.

Histopathological examination of treated tumor masses showed that necrosis and fibrosis were the predominant features occurring with the advanced treatment proportional to the reduction in tumor volume as well as

huge infiltration of inflammatory cells. In advanced time of treatment, there were only few islands of tumor tissue sequestered by massive mature fibrous tissue.

The results of cytogenetic study showed none of the studied pyocin preparations had mutagenic effect on DNA of dividing human lymphocytes. Effect of pyocin preparations on (MI, BI, RI and CCP) was dose-dependent, higher concentration had an inhibitory effect significant decrease of mitosis and Blast cells formation in purified and crude pyocin-treated groups. The results of cell cycle progression (CCP) and replication index percentage (RI%) supported the other cytogenetic results, that indicates the lowering effect of each of purified or crude on CCP and in turn on RI%. And high significant decrease in the SCE\ cell. Meanwhile, lower concentration increased transformation of PHA- stimulated cells.

Pyocin preparations increased the activity of immune cell. They increased phagocytosis; superoxide production by polymorphinuclear leucocytes in addition, the abilities of B- lymphocytes and T- lymphocytes for rosette forming was increased at certain low concentrations.

Production and Purification of L-asparaginase (L- asparagines amidohydrolase) E.C.3.5.I.I. from microorganisms and using it in malignant tumors (*in vitro*)

Mohammad Q. Abd-Mustafa; Mohammad O. Mohee-Al-Deen; Nahi Y. Yaseen

The aim: of this study is to explore the local isolates that are able of producing L-asparaginase and screen it to obtain the high efficiency in enzyme production and to determine the optimum condition to L-asparaginase production.

These studies included purification of L-asparaginase and study its kinetics and effective factors in enzyme production. Genetic study for selective isolate which has a high production for L-asparaginase was achieved; the improvement of production by physical and genetic mutagens was run.

This study included the use of L-asparaginase in inhibition of the malignant tumor cells, including Hepatocarcinoma and S.U.99 Plassmocytoma.

Methods: including various attitudes:

1. Isolation, identification, and screening for bacterial isolates which produce L-asparaginase.
2. The effective factors in L-asparaginase production.
3. The purification and characterization of the L-asparaginase.
4. Genetic and mutation studies.
5. The inhibition of malignant tumor cells by purified L-asparaginase (biological experiment).

Results:

1. The isolation identification and screening for bacterial isolates which produce L-asparaginase.
   288 bacterial isolates that are obtained in this study included: *E.coli*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Azomonas*, *Azotobacter*, *Rhizobium* and *Erwinia*. 160 isolates was able of producing L-asparaginase (55.5%). All isolates of *E.coli*, *Enterobacter* and *Erwinia* are able of producing L-asparaginase (100%); all *Azomonas* isolates don't produce L-asparaginase. Different level in L-asparaginase production by Azotobacter and Rhizobium was shown (primary screening-stage one). Five isolates of *Erwinia* was prominent in L-asparaginase production and the local isolate MM3 was prominent in production by quantitative method (indophenols), the L-asparaginase activity was 3.52 U\ml. The MM3 isolate was classified as Erwinia carotovora species that caused the soft rot to potato was selected to complete this study.
2. Extraction of L-asparaginase and study the effective factors in its production.

The best method in L-asparaginase extraction by alkali treatment NaOH (1N), the activity was 0.72 U\ml.

The highest efficiency was observed when the glucose and histidine was used as a source of carbon and nitrogen respectively, the activity was 2.97 and 1.25 U\ml respectively. And when the glucose-histidine medium was used the activity was 4.00 U\ml.

The initial pH for L-asparaginase production medium was 7.00, and the optimum temperature for production was 30°C and the activity was 0.34 and 2.10 U\ml respectively.

The highest production was shown by using the shaker-incubator on 200 RPM and the activity was 2.14 U\ml. All the mineral salts caused inhibition of L-asparaginase activity, and the use of sodium citrate (5%) record activity 5.81 U\ml.

The highest production was shown by using 1% inoculums 2X10-5 cell\ ml) and the activity was 4.46 U\m and high activity was shown in 18 hours incubation period and decreased in 24 hrs. incubation period, the activity was 5.8, 1.9 U\ml respectively.

3. The purification and characterization of the L-asparaginase.

The purification of L-asparaginase by ammonium sulfate precipitation was done; the yield and purification number was 44% and 1.46 times respectively. Ion exchange by DEAE- sephacyl was done; the yield and purification number was 42.57% and 3.05 time respectively. The gel filtration by sephacryl S-300 gel showed two peaks for enzymes activity, ERI and ERII, the yield and purification number for ERI was 21.6% and 3.36 times respectively, the yield and purification number for ERII 32.17% and 5.03 times respectively. Each peak was separated by gel filtration in the same conditions ERI fraction has a yeld and purification number 18.30% and 7.92 times respectively, while ERII has a yield and purification number 29.19% and 12.50 times respectively.

Both ERI and ERII are running on Polyacrylamide Gel Electrophoresis PAGE (70%) to explain the purity of enzymes; ERI has one band while ERII has three bands.

The molecular weight for L-asparaginase was determined by gel filtration and PAGE – SDS showed the different values according to the useful method. The molecular weight for ERI and ERII was 39800 and 10200 Daltons respectively in PAGE – SDS method.

The optimum temperature for ERI and ERII was 30°C for both enzymes, the activation energy for ERI was 13.5 X103 cal\ moles and ERII was 10.9 X103 cal\ mole, while the activation energy for denaturation for ERI was 4.6 X103 cal\ mole and ERII was 9.4 X103 cal\ mole. The optimum pH for both enzymes was neutral equal 7.00, ERI keeps all its activity when treated by pH=7.00 for 60 min. While ERII keeps all its activity when treated by pH=7.00 for 30 min.

Km for ERI was 6 X10-3 molar and ERII was 3 X10-3 molar, V max for ERI was 3.2 molar\ min. and ERII was 6.1 molar\ min. when they were estimated by Michaelis-Menten plot method.

Both ERI and ERII resistance NaCl and KCl in 0.2% concentration where keeps all activity in this concentration, the activity of ERI and ERII decreased when increased concentration of EDTA and 2-mercaptoethanol.

4. The development of efficiency for carotovora MM3 Erwinia in production of L-asparaginase by conjugation and physical radiation.

The DNA electrophoresis for total DNA on agerose gel (1%) for the local islates MM3 and standard isolates included by plasmid, chromosome, and small plasmids.

The curing of plasmids from two isolates by treating them with graded concentration carried by plasmids or influenced by plasmids, the curing cells were submitted for electrophoresis for assuring for occurrence of curing.

The bacterial conjugation between two isolates was done and notices the all conjugated isolates were able of producing L-asparaginase. The electrophoresis for DNA conjugated isolates were done by 1% agarose gel to assure occurrence of bacterial conjugation between two isolates successfully.

The radiation for isolates by U.V light on 270 nm lead to obtain on MM3M mutant isolate which has highest efficiency in production of L-asparaginase, the production of L-asparaginase zone was 25 mm, the specific activity was 6.42 U\ mg, while the original specific activity for L-asparaginase was 4.37 \ mg.

The radiation for MM3 isolate by Laser Helium- Neon radiation showed the disability of this radiation to cause the mutations which lead to improve the production L-asparaginase, the specific activity for L-asparaginase produced from radiated cells suspension was 3.46 U\ mg which equal the original L-asparaginase specific activity 3.50 U\ mg.

5. Used L-asparaginase in inhibition of tumor cells.

Hepatocarcinoma and S.U.99 Plasmocytoma cells were used to determine the ability of ERI and ERII in inhibition the tumor cells are studied by ELISA technique, both enzymes has the ability to the inhibition of the used cells.

ERI was more prominent than ERII in Hepatocarcinoma cells inhibition.

ERI was more prominent than ERII in ERII IN S.U.99 Plasmocytoma cells inhibition.

Used the both enzymes without dilution give good inhibition activity to the used cells.

Effect of royal jelly and propolis on some tumor cells *in vitro* and *in vivo*

Khalid M. Salih; Bedir M. Al-Azawi; Nahi Y. Yaseen

Although honey is considered to be the most interesting product to humans, bees also make royal jelly and propolis which are multifunctional products with many anti-microbial, anti-oxidant, anti-inflammatory, as well as anti-tumor activities. Many aspects about the effects of six concentrations of royal jelly extract (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, and 4 mg/ml) and propolis extract (0.25, 0.5, 1, 2, 4, and 8 mg/ml) on tumor cell lines (Hep-2 and AMN-3), normal cell line (Ref) and human lymphocytes were investigated in this study by using tissue culture techniques. In addition, *in vivo* effects of royal jelly and propolis extracts in normal and mammary gland carcinoma (AM3)-implanted female mice has been studied to identify their toxicity, anti-inflammatory, immuno-regulatory and anti-tumor activities as well.

The results obtained from this study showed inhibitory effect on cell-adhesion of Hep-2 cells (58.6 %) after 24hr exposure to royal jelly, while propolis inhibited cell-adhesion in both AMN-3 (23.7%) and Hep-2 (48.9%).

Anti-proliferative effect was noticed on the Ref cells (26.4%), AMN-3 (25.6%) and Hep-2 (56.5%) after 48hr exposure to royal jelly, while propolis showed anti-proliferative only in tumor cell lines; AMN-3 (63%) and Hep-2 (66.7%).

Modulatory effect on protein content in the secretion of cell line cultures increased about 120.2% in Ref culture, and reduced about 95.9% and 58.3% in AMN-3 and Hep-2 respectively after 48hr exposure to royal jelly. Similarly propolis treatment caused a reduction of 79.1% in AMN-3 culture and increment of 84.7% and 94.6% in both Ref and Hep-2 cultures respectively.

Both royal jelly and propolis treatment caused potent apoptotic effect in Hep-2 (96.3 and 100% respectivley) and in AMN-3 cell line (79.3% and 88.3% respectively) after 36hr.

After 72hr exposure to royal jelly and propolis, the protein content in the secretion of lymphocytes decreased from 69±7.7 down to 12±1.73 and 11.3±1.86 μg/ml respectively. Also 72hr exposure to royal jelly and propolis caused significant reduction in the mitotic index of peripheral blood

lymphocytes (2±0.09 and 1.9±0.06 respectively), compared to their control (3.5±0.36).

Different acute toxicity effect has been revealed after 24hr i.p administration of royal jelly and propolis in normal mice in respect to LD50 (6210 and 1690 mg/kg respectively), with no chronic toxicity effects for 28 alternative days of i.p administration of royal jelly and propolis at a doses of 500 and 800 mg/kg respectively. On the other hand, both products showed no effect on the mitotic index of bone marrow cells and IL-2 level, while IFN-γ is significantly dropped from 275.4±77.02 down to 76.5±32.96 and 64.4±21.64 pg/ml in royal jelly and propolis-treated mice respectively.

Formalin-induced chronic inflammation has been inhibited in normal mice by i.p administration of royal jelly or propolis at doses of 500 and 800 mg/kg respectively for 6 consecutive days, but propolis treatment showed a more potent anti-inflammatory effect (77.8%) than that of royal jelly treatment (61.1%).

Therapeutic effects have been detected in tumor-bearing mice by i.p administration of royal jelly or propolis at doses of 500 and 800 mg/kg respectively for 28 alternative days in respect to restoration of body weight and reduction in tumor volume (53.3%, 80.8%) and tumor weight (67.3%, 80% respectively) but with no effect on mitotic index of bone marrow cells and IFN-γ, while IL-2 level was slightly increased from 17.9±3.76 up to 40±2.54 pg/ml in propolis-treated mice.

The results obtained from this study clearly indicated that royal jelly and propolis have anti-tumor effect *in vitro* and *in vivo*, potent anti-inflammatory effect and slight immuno-regulatory effect.

A Study on the role of polysaccharides extracted from capsule of locally isolated *Klebsiella pneumoniae* in the inhibition of cancer cells *in vivo* and *in vitro*

Mohammed A. Darwish; Rashid M. Musleh; Nahi Y. Yaseen

The fast progress in the microbiological sciences and their relation to cancer , and the same time the efforts made to get an end to this dangerous disease without affecting normal cells as a possible therapies to get riddance of these malignant cells led the researchers in this field to look forward for developed therapies. This scientific effort aims of the study, the roles of the capsular polysaccharides of *Klebsiella pneumoniae* inhibiting cancer cells *in vitro* and *in vivo*.

To achieve the aims of the study, *Klebsiella pneumoniae* has been isolated first from pathogenic cases included urinary tract infection and respiratory infection in hospitals , after that *K.pneumoniae* has been diagnosed depending on biochemical tests, in addition to the use of API 20 E-System, and we have got (10) pure isolates of this bacteria .Then an extraction of capsular polysaccharides (CPS) from *K.pneumoniae* has been made and then measurement of the amount of carbohydrates in the extract, here the rate of polysaccharides in capsule was (10,088) µg/ml. This extract has been used as follows:

Firstly: Studying the therapy effect of the extract on cancer cells which was symbolized by mammary adinocarcinoma implanted in mice.

There was three concentrations of the extract in this experiment (5000) (7,500) (10,000) by injection the extract intraperitoneal (I.P) for (23) successive days. These concentrations caused an inhibition in the growth of cancer tumour *in vivo*; the concentration of (5000) µg/ml recorded the highest inhibition rate in the average of the tumour volume (244,7mm^3). While the rest of concentration has given less rates in the inhibition of cancer tumour volume (516, 7 & 406,7mm^3) respectively.

Another therapist experiment was made against the same kind of cells for (13) days, in which two concentration then the mice was injected intraperitoneal with the concentration of (10,000) µg/ml for (5) days and then injected with the concentration of (5000) µg/ml for (8) days. This experiment has given an inhibition rate of the average of cancer tumour volume about (89.61%).

In addition the histopathological test of the tumour has showed necrosis areas and large abscess with decrease in the volume and number of cancer cells with a huge infiltrate from the inflammatory cells and polymorph nuclear cells and monocytes led to activate the immune cells.

Secondly: studying the toxic effect of extract on the normal cells in white mice. This study included:

A- Determining the lethal doze fifty (LD50%) and studying the external pathogenic effects in mice.

B- Studying the toxic histopathology in animal's organs including (Liver, Spleen, kidney, Lung). This study explained intoxicant of the extract capsular polysaccharides after the injection of the extract (5000, 7500, 10000) µg/ml intra peritoneal for (24)hr, there was no histopathological effects in all organs except mild congestion in the walls of air vesicles in lung and congestions in liver blood vessels after continuity of injection for (7) days. While they did not show any histological changes in kidney and spleen.

Thirdly: Studying the toxic cellular inheritance effects in divided lymphocytes. This study included its effect on mitotic Index (MI) and Blastogenic Index (BI). (CPS) extract has caused declination in mitotic index in all used concentrations (1000, 2000,4000,8000) µg/ml. there was a reversible relation between CPS concentration and mitotic index, while there was a little raise recorded in Blastogenic index as compared with control for all used concentrations.

Fourthly: Studying the toxic effect of CPS extract in the studied cancer cell lines. Human larynx epidermoid carcinoma (Hep-2) and Rat embryo fibroblast (Ref-3). In this study six concentrations of CPS were used (500, 1000, 2000, 4000, 6000, 8000) µg/ml. the extract has showed an increase in cell growth at low concentrations at first day of exposure for both lines, while the growth rate declined at high concentrations. All the concentrations have recorded an inhibition rate for cancer cells in second and third day of exposure; this depends on the exposure time and concentration amount of the extract. The highest inhibition rate of Hep-2 was (85.2%) at (72hr) and Ref-3 was (87.5%) at 72 hr of exposure.

Effect of Water and Alcoholic Extracts of Mushroom *Agaricus bisporus* on some Tumor Cells *In vitro* and *In vivo*

Waffa F. Ibrahim; Hana H. Mengelo; Nahi Y. Yaseen

This research was designed to study the effect of water and alcoholic crude extracts of *Agaricus bisporus* in *vitro* and *in vivo.*

Cytotoxic effect of different concentrations (312.5, 625, 1250, 2500, 5000) of these extracts was investigated by using tumor cell lines, murine mammary gland carcinoma (AMN3) and Human epithelial cell carcinoma of larynx (Hep-2). The results showed high significant differences ($P \leq 0.001$) cytotoxic effect in dose-dependent manner for both watery and alcoholic extracts particularly at the higher concentration 5000 µg/ ml of both extracts showed cytotoxic effect on (Hep-2) cell line after 72 hrs incubation in which the growth inhibition became 34.20% and 60.27% respectively. Similarly these extracts showed cytotoxic effect on (AMN3) cell line, but after 24 hour incubation, in which the growth inhibition was 25.54% in those treated with water extract at concentration of (5000) µg/ml, and 42.64% in those treated with alcoholic extracts at the same concentration.

Water and alcoholic extracts at the highest concentration (5000) µg/ml revealed significant apoptotic effect in each of (Hep-2) cell line (25.33, 46.44% respectively) and (AMN3) cell line (46.01, 62.00 respectively) in comparison with those of non treated (11.45, 18.01).

This study also investigated significant effect ($P \leq 0.01$) of both extracts at different concentrations (62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000) µg/ml on the mitotic index (MI) and blast index (BI) of PHA-induce human peripheral lymphocytes *In vitro.* The result revealed significant inhibitory effect ($P \leq 0.01$) in dose-dependent manner, in which water extracting highest dose reduced the (MI) and (BI) from (3.91, 57.48 %) in control down to (1.45, 30.33%) in treated lymphocytes respectively, while alcoholic extract reduced (MI) and (BI) from (3.91, 57.48 %) in control down to (0.86, 26.79 %) in treated lymphocytes respectively.

On the other hand this study tested the toxic effect of both extracts in normal laboratory mice. The results showed that water and alcoholic extracts relatively have an acute toxic effect in mice in respect to LD50 (85.282 mg/kg, and 277.45 mg/kg respectively). However the chronic

toxicity of water extract at three different concentration (333.3, 500, 666.6 mg/kg) and alcoholic extract at concentrations of (500, 1000, 1500 mg/kg) was investigated in normal mice by (I.P) administration for 30 days alternatively.

The results indicated significant effect ($P \geq 0.01$) increasing in (MI) and (BI) of bone marrow cells and serum IFN-γ level, but with no significant effect on body weight and histological changes in some internal organs (liver, kidney, spleen).

Therapeutic effect of both extracts was studied in tumor-bearing mice after (I.P) administration of watery extract at concentrations of (333.3, 500, 666.6 mg/kg) and alcoholic extract at concentrations of (500, 1000, 1500 mg/kg) for 30 days alternatively. The results revealed significant reduction in the tumor volume weather in those treated with watery extract 87.10%, or those treated with alcoholic extract 87.98%, particularly at the concentration of 666.6 mg/kg and 500 mg/kg respectively.

Also both extract caused inhibitory effect in each of (MI) and (BI), however they should significant increase ($P \geq 0.01$) in the serum level of IFN-γ and body weight.

Histopathological study showed necrosis and infiltration of inflammatory cells encapsulated tumor mass by fibrous tissue, while the immunohistochemistry demonstrated significant ($P \geq 0.01$) apoptotic effect in the tumor cells in those treated with water or alcoholic extract. However, histopathological study of internal organs in tumor-bearing mice treated with water or alcoholic extract revealed no metastasis of cancerous cells in these organs, but inflammatory cells had detected infiltrated in both liver and kidney, while the spleen was enlarged with extractivation of the white pulp and Megakaryocytes.

A Study of the Effect of Wall Teichoic Acid (WTA) Extract from *Enterococcus faecalis* on Normal and Some Cancer Cell lines

Shahlaá A. Hassan; Hayfa H. Hassani; Nahi Y. Yaseen

Twenty isolates of *Enterococcus faecalis* were isolated from 150 samples of urine, stool, swabsrskin collected from humans swabs & skin. Cultural and biochemical assays were used to identify isolates. API-20 strep system and lancefield tests were carried out to confirm the identification.

Resistances of *E. faecalis* isolates to antibiotics were examined. Some of these isolates were resistant to 9 out of 16 of antibiotics were used in this study. Moreover, all isolates were showed high resistant (100%) to Streptomycin and 90% of isolates were resistant to Tobramycin. On the other hand, all isolates were sensitive to Genatmycin, Chloramphenicol, Penicillin G, Ampicillin, Vancomycin, Rifampcin and Co-trimexazole.

Wall teichoic acid (WTA) was extracted from *E. faecalis* SHJ_{s1} that was isolated from infected child and possessed high resistant to antibiotics by using 5% TCA, thereafter partial purification using Sepharose CL-6B gel filtration chromatography was done. The peak of WTA was extended from fraction 8 to 18. The contents of partial purification of WTA from phosphorous and protein were measured, and it was performed 91.37 µm/ml and 0.022 mg/ml, respectively.

Effect of crude WTA on human blood lymphocytes genetic material was studies by using several genetic parameters such as mitotic index (MI), blast index (BI), and chromosomal aberration. The crude extract of WTA caused significant reduction in mean of MI, slight increased in BI; but no chromosomal rearrangement was seen.

Furthermore, cytotoxic effect of crude and partial purified of WTA in normal and several cancer cell lines were examined. Both extracts at 5000 µg/ml were exhibited high inhibitory activity to Hep-2 and AMN-3 at exposure time 24 hrs. Therefore, reducing in the percentage of inhibition was noticed when the exposure time was increased. On the contrary the both extracts of WTA were induced the proliferation of cancer cells of Hep-2 and AMN-3 at exposure time 24 hrs. Notably, when the exposure time was increased, the proliferation of Hep-2 and AMN-3 was decreased. Obviously,

the cytotoxicity of the both extracts has slight effect on normal cell line, Ref.

In addition, the crude extract of WTA was achieved a good inhibition on mitosis of Hep-2 cells and it was revealed high efficacy to block mitosis and caused death to AMN-3 cells.

Cytogenetic and Apoptotic effects of Ceramide on cancer cells: *In vivo* and *in vitro*

Muthana I. Maleek; Hayfa H. Hassani; Nahi Y. Yaseen

This study aims to evaluated the inhibitory activity of Ceramide on cancer cells and measure the cytotoxicity of Ceramide on cancer cell lines and in animal lab, moreover, its role in apoptosis, was illustrated.

Ceramide was separated from bovine brain and spinal cord, and extracted by organic solvents. The crude extract was purified by using silicic acid column, and yellow fraction was obtained. Thereafter, detection and identication of purified extract were carried out by using three assays: visualization, spectrophotometery and infrared. In the first assay, blue products were formed when the extract exposure to benizidine spray, in the second assay, only one peak at wavelength 326 nm with absorbance 1.481 was noticed. While in the third assay, which was inferred assay, many peaks were recorded for many inferred absorption frequencies that represented functional groups of Ceramide.

Cytotoxic effect of different concentrations (7, 15, 30 and 60 um) of Ceramide on cancer cell lines which included: Hep-2, RD, AMN3, AMGM5 was studied. Ceramide at 30 um has influential activity on all cancer cell lines especially on AMGM5.

Moreover, the effect of the active dose, 30um of Ceramide on cell division of human lymphocyte was examined. Significant reduction in mitotic and blast induces were observed, in addition, Ceramide has neither genotoxic effects nor chromosomal aberration could be detected in to lymphocyte chromosomes *in vitro*.

Effect of ETEC *Escherichia coli* enterotoxins on cancer cells, cell lines and laboratory animals

Ilham S. Abdul-Karim; Rashid M. Al-Musleh; Nahi Y. Yaseen

This study aimed investigating the cytotoxic effect of crude enterotoxins on normal and cancer cells both in vitro and in vivo. The present study included isolation and identification of pathogenic *Escherichia coli*, from children (under 3-years for both sexes) infected with severe diarrhea, from March to June 2005, and as follows:

- Sixty six Isolates (60%) were obtained from 110 samples. These isolate were identified according to morphological and biochemical tests, and for confirmation by Api-20E System.
- Serological identification for these isolate (66 isolates) showed that only 12 (18%) isolate were belonged to Enteropathogenic group of *E. coli.* (EPEC).
- The results of using Suckling Mouse Assay (SMA) showed that only 13 (19.6%) out of 66 Isolate were capable of producing heat- stable (ST) enterotoxin, therefore these isolate belonged to Enterotoxigenic group of *E. coli* (ETEC). Whereas the EPEC isolates were all negative for this test.

According to the toxin activity that was evaluated by (SMA) the Isolate NO.99 determinate as the most efficient isolate in producing the (ST). The same isolate (99) of E.coli showed its ability to produce heat Labile enterotoxin (LT), by using Rabbit lileal Loops.

The isolate (99) revealed for sensitivity to Ampicillin, Gentamicin, Nalidixic acid and Nitrofurantion antibiotics, but resistance to Amoxicillin, Cefixime, Cephallothin, Ciprofloxacin and Trimethoprim.

This isolate also showed its ability to adhere by using the special media that contain the congo red stain, and by using hemagglutination test because it possesses the colonization factors antigen (CFA\1) and CFA\III However it failed in producing hemolysin enzyme that hemolyze red blood cells.

The toxin reserved its activity at temperatures (20, 40, 60 and 80) °C, but loss some of its effect at 100 °C and kept its activity at 4 °C for (24- 48) hrs. it was found that the highly toxic activity reduced in the PH 5, 9.5. The time of mice response to enterotoxin was determined. At 90 min., as the maximum of response and 180 min. as the optimum time of response.

Enterotoxin was purified partially by using spharose CL- 6B, and the molecular weight for (ST) was 17378 Dalton. LD50 in mice was revealed that the concentration of 390 mg\kg have the activity in reducing the tumor volume when injected directly in tumor, with an inhibition ratio between (83- 89) % beginning at 8^{th} day of the 25^{th} injecting days. While when the toxin was injected intraperitonealy, the inhibition ratio of tumor was less than the injection in tumor itself.

The dose 97.5 mg- kg that given daily for 25 days showed more efficiently in reducing the tumor in percent of 73.3. The comparative study between the relative volume of tumor in treated group and the relative volume of tumor in control group revealed that there was significant difference statistically important all over the treatment time.

The necrosis and fibrosis were the most important characteristics in treated groups after histopathological examination which apparently with the progress of treatment associated with volume decrease of tumor, so it was found that the last stage of treatment showed the cancer cells presented like small land surrounded by dense fibrous tissue.

The treatment by using all toxin concentration in both ways of injections murine bone marrow cells, showed significant increase in blast index (BI) and mitotic index (MI) when compared with control.

The toxic effect of crude extraction was studied in tumor cell lines (*in vitro*) Hep-2 and AMN3 and the normal cell line REF, the study showed that the toxic effect depend on the type of cells, the dose and the time of exposure. This study revealed that the AMN3 cells were more susceptible from that of Hep-2 cells and the high concentration caused inhibition to the growth of the tumor cells, specially the concentration of 60000 mg\ ml, also growth and multiplication of REF cells. Whereas the concentrations of 1875 and 3750 mg\ ml were found as an inhibitor to REF cells.

Partially purified enterotoxin (ST) showed that its effect was found to inhibit Hep-2, AMN3 and REF cells at 72 hrs. of exposure and has an inducer effect to growth of cells at 24 hrs. of exposure in all concentrations, but the effect was differ in the time of exposure at 48 hrs, that the three concentrations (1.986, 3.965 and 7.95) mg\ ml showed inducing effect, while the three high concentrations (15.86, 158.6 and 1586) mg\ ml showed inhibition effect to AMN3 cells. Also the high concentrations (30000 and 60000) mg\ ml were found as inhibitor to REF cells at (48, 72) hrs. but they were inducer of growth at 24 hrs. of exposure.

The toxicity effects of crude enterotoxin were studied in human Lymphocyte multiplication (in vitro), and the higher concentration showed decline in Mitotic index (MI), but it was induced cells to transform in present of mutagen, so there was inverse in blast index (BI) when compare with the control.

المركز العراقي لبحوث السرطان
والوراثة الطبية

المستخلصات النباتية والبايولوجية
في
علاج السرطان

إعداد

أ.د. ناهي يوسف ياسين

أ.م.د. شلال مراد حسين م.م.د. فراس صبحي صالح م.م. مائدة حسين محمد

2008

المستخلصات النباتية والبايولوجية
في
علاج السرطان

إعداد

أ.د. ناهي يوسف ياسين

أ.م.د. شلال مراد حسين م.م.د. فِراس صبحي صالح م.م. مائدة حسين محمد

2008

المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية

طبع في المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية سنة 2008

جميع حقوق الطبع محفوظة للجهة الناشرة (المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية)

طبع في بغداد - العراق

المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية

للمزيد من المعلومات:

بغداد، حي القادسية، محلة 603، زقاق 23، خلف مستشفى اليرموك التعليمي

تصميم وتنفيذ: د. فراس صبحي صالح

المحتويات:

العنوان	اسم الباحث	رقم الصفحة
المقدمة		1
المستخلصات النباتية		
تأثير المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في نمو الخلايا السرطانية في الزجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران	*شلال مراد حسين؛ كامل فهد خزعل؛ ناهي يوسف ياسين*	5
دراسة تأثير الكحول الاثيلي والهكسان لثمار نبات الهيل *Eleettaria cardamomum* (cardamom) في خطوط الخلايا السرطانية والخلايا اللمفاوية للدم المحيطي للانسان خارج الجسم	*كفاح جبار شاكر؛ ناهي يوسف ياسين*	6
تأثير المستخلصات الخام لعشب السعد *Cyperus rotundus* L. في تثبيط نمو الخطوط الخلوية السرطانية	*زيد عبد المنعم علي؛ اليس كريكور اغوب؛ ناهي يوسف ياسين*	8
تأثير مستخلصات الشاي الاخضر والاسود على انواع مختلفة من خطوط الخلايا خارج جسم الكائن الحي	*عمر فخري سعيد؛ نبيل محمد جواد؛ ناهي يوسف ياسين*	10
تأثير بعض المستخلصات النباتية المحلية على الخلايا الطبيعية والسرطانية (خارج الجسم)	*چهان فاضل اشرف؛ خلود السامرائي؛ ناهي يوسف ياسين*	11
تاثير المستخلصات الخام لنبات الميرمية *Salvia triloba* L. f. على الخطوط السرطانية والمتحولة والطبيعية	*عبد الله ابراهيم صالح؛ بدري عويد العاني؛ ناهي يوسف ياسين*	12
تأثير مادة حليب التين على سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران وفي خطوط الخلايا السرطانية في المختبر	*باسم عبد الحسين جار الله؛ خليل حسن زناد؛ ناهي وسف ياسين*	13
تأثير المستخلص الخام لعشب الشيح *Artemisia herba alba* في تثبيط نمو الخلايا السرطانية في المختبر وفي علاج السرطان المغروس في الفئران	*احمد حميد عبود؛ خليل حسن زناد؛ ناهي يوسف ياسين*	15
دراسة تاثير مستخلصات أوراق نبات الدفلة *Nerium oleander* الخام والنقية في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج وفي الفئران البيضاء	*رغد ضياء عبد الجليل؛ عبد العزيز مجيد الكبيسي؛ ناهي يوسف ياسين*	17
دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات الصفصاف *Salix acmophylla* في نمو الخطوط الخلوية السرطانية والخلايا اللمفاوية الطبيعية للإنسان	*أزهار موسى جعفر؛ هادي رسول حسن؛ ناهي يوسف ياسين*	21

دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات عين البزون *Vinca rosea* في نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية لبعض اللبائن خارج الجسم	*لقاء حسون صكبان؛ هادي رسول حسن؛ ناهي يوسف ياسين*	22
دراسة تأثيرات مستخلصات أوراق الزيتون الخام المضادة للسرطان في الزجاج وفي الجسم الحي	*حامد ناجي عبيد؛ جبار ياسر المياح؛ ناهي يوسف ياسين*	23
دراسة تأثير الخلاصة الكحولية لنبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في خلايا السرطانة الغدية الثديية المزروعة تجريبياً في الفئران	*سحر ضاري توما؛ كامل فهد خزعل؛ شلال مراد حسين*	25
دور المستخلص المائي للراوند *Rheum ribes* والزعتر *Thymus syriacus* في تثبيط التأثيرالتطفري للعقار Gemcitabine والتأثير التسرطني لمادة 7, 12-DMBA في ذكور الفئران البيض	*كريم جلال كريم؛ بشرى محمد امين؛ ناهي يوسف ياسين*	26
دراسة التأثير المرضي والمناعي والوراثي الخلوي للمستخلص الخام لنبات القريص *Urtica dioica* للخلايا السرطانيه في الزجاج وفي علاج السرطان المغروس في الفئران البيضاء	*ايمان هاشم يوسف؛ طالب عبد الامير مكاوي؛ ناهي يوسف ياسين*	28
دراسة تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى تمر الزهدي *Phoenix dactylifera* cultivar Zahdi في تثبيط نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية في الزجاج وفي علاج سرطان الغدة اللبنية المغروس في الفئران البيض	*ياسر حسين زيدان؛ بدري عويد العاني؛ ناهي يوسف ياسين*	31
تأثير المستخلص الكحولي لجذور نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في تثبيط نمو الخلايا السرطانية النامية في الزجاج واستخدامه في معالجة الأورام المغروسة في الفئران المختبرية	*أزل حمودي جمعة؛ كامل فهد خزعل؛ شلال مراد حسين*	33
دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات السبحبح *Melia azedarach* على خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية في المختبر	*رغد هيثم طه؛ نبيل العاني؛ ناهي يوسف ياسين*	35
التأثيرات السمية الخلوية والوراثية لمستخلصات نبات *Capparis spinosa L.* الخام على الخطوط الخلوية السرطانية في الزجاج والحي	*اسعد عبد الواحد بدر الاسدي؛ ناهي يوسف ياسين*	36
تأثير المستخلصات الكحولية الخام لبذور واوراق نبات الكرفس *Apium graveolens* في سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في اناث الفئران البيض	*مروة عامر حسين؛ رسمية حياوي مراد؛ شلال مراد حسين*	39
التأثيرات السمية الخلوية والوراثية لمستخلص جذور نبات الرايوس المحلي *Rheum ribes* L. على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية	*هاژه جمال هدايت؛ ناظم جلال اسماعيل؛ ناهي يوسف ياسين*	41
دراسة وراثية خلوية لتأثير المستخلصات الخام لبذور الكتان في بعض الخطوط الخلوية السرطانية	*أشرف نزار سعد؛ عبد الزهرة كاظم محمد؛ ناهي يوسف ياسين*	42

تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان *Silybum marianum* L. على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية	***اسراء صكر سلمان؛ محمد عبد الهادي غالي؛ ناهي يوسف ياسين***	**44**
تأثير المستخلص المائي الخام لقشور الرمان على خطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج والفئران	***اسيل ياسين كاظم؛ مهند محمد نوري؛ شلال مراد حسين***	**45**
دراسة تأثير المركبات الفينولية المستخلصة من قشور ثمرة العنب *Vitis vinifera* في بعض الخطوط الخلوية (في الزجاج)	***زينب ياسين محمد؛ عصام فاضل عواد؛ ناهي يوسف ياسين***	**46**
تأثير المستخلصات الخام لسيقان نبات *Lactuca serriola* L. على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية	***ايمان اسماعيل عبد الحميد؛ عبد الحكيم احمد العبد الله؛ ناهي يوسف ياسين***	**47**
تأثير الفينولات المتعددة المستخلصة من الشاي الأخضر *Camellia sinensis* في الخلايا الطبيعية والسرطانية داخل وخارج الجسم الحي	***محفوظة عباس عمران؛ غازي منعم عزيز؛ ناهي يوسف ياسين***	**48**
تأثير المستخلص الخام للكركم على خطوط الخلايا السرطانية	***فراس صبحي صالح الطائي؛ نادية طارق بركات؛ طيبة حكمت جعفر؛ خنساء راند داود***	**50**
التأثير التثبيطي للنمو لمستخلصات بذور اللهانة على خط الخلايا السرطانية Hep-2	***شلال مراد حسين؛ فراس صبحي صالح الطائي؛ خنساء راند داود السعدي؛ نادية طارق بركات؛ رشا عبد الامير حسين***	**51**
المستخلصات البايولوجية		
دراسة بعض التأثيرات الحياتية للكولسينات في الخلايا الطبيعية والسرطانية خارج وداخل الجسم الحي	***هند حسين عبيد؛ رجوة حسن عيسى؛ ناهي يوسف ياسين***	**53**
التأثير السمي لصبغة البايوسيانين Pyocyanin المستخلصة من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في بعض خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية للانسان والحيوان	***شيماء صبحي العزاوي؛ لينة عبد الكريم؛ ناهي يوسف ياسين***	**57**
التحري عن السمية الوراثية للمستخلصات البكتيرية لاشريكيا القولون	***نجاح رزاق محمد علي؛ انطوان صبري البنا؛ ناهي يوسف ياسين***	**58**
دراسة بكتريولوجية ومناعية للبايوسين المستخلص من الزائفة الزنجارية المعزولة محلياً وتأثيراته على الخلايا السرطانية خارج وداخل الجسم الحي	***ماجدة مالك متعب؛ نضال عبد المهيمن؛ ناهي يوسف ياسين***	**60**
انتاج انزيم L-asparaginase (L- asparagines amidohydrolase) من بكتريا *Erwinia carotovora* MM-3 وتنقيته واستخدامه في تثبيط الخلايا السرطانية (خارج الجسم الحي)	***محمد قيس عبد مصطفى؛ محمد عمر محيي الدين؛ ناهي يوسف ياسين***	**62**

تأثير الغذاء الملكي و العكبر على بعض الخلايا الورمية في الزجاج والحي	***خالد مهدي صالح؛ بدر محمد العزاوي؛ ناهي يوسف ياسين***	**66**
دراسة دور عديد السكريد المستخلص من محفظة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* المعزولة محلياً في تثبيط الخلايا السرطانية داخل وخارج الجسم الحي	***محمد احمد درويش؛ رشيد محجوب مصلح؛ ناهي يوسف ياسين***	**68**
تأثير المستخلصين المائي والكحولي الخام للعرهون *Agaricus bisporus* على بعض الخلايا السرطانية في الزجاج و الحي	***وفاء فوزي ابراهيم؛ هناء حنين منكلو؛ ناهي يوسف ياسين***	**69**
دراسة تأثير حامض التكويك الجداري (WTA) المستخلص من بكتيريا *E. faecalis* في الخلايا الطبيعية وبعض الخطوط الخلوية السرطانية	***شهلاء علي حسن؛ هيفاء هادي حساني؛ ناهي يوسف ياسين***	**72**
التأثيرات الوراثية الخلوية وموت الخلايا المبرمج للسيرمايد في الخلايا السرطانية: داخل الجسم الحي وخارجه	***مثنى ابراهيم ملك؛ هيفاء حساني؛ ناهي يوسف ياسين***	**73**
تأثير الذيفانات المعوية لبكتريا ETEC *Escherichia coli* في الخلايا السرطانية، والخطوط الخلوية وفي حيوانات التجارب	***الهام سعيد عبد الكريم؛ رشيد محجوب المصلح؛ ناهي يوسف ياسين***	**74**

المقدمة

لازالت الامراض السرطانية غير مفهومة بشكل دقيق وغالباً ما تكون مميتة. واصبح السرطان بشكل عام يشكل احد الاسباب الرئيسية للموت في كل انحاء العالم. في كل سنة هناك الملايين من الناس الذين يبتلون بهذا المرض المرعب. ورغم التطورات التقنية العالية اللتي تشهدها الساحة العلمية في مجال تشخيص الامراض والدراسات الميدانية والعلاجات المتطورة والمسوحات الميدانية لازالت معدلات الاصابة والموت من جراء السرطان لم تتغير وفي بعض الدول وجد انها ازدادت بشكل ملحوظ. هذا جعل المؤسسات العالمية المعنية بصحة الانسان تعلن ان السرطان صار معضلة كبيرة ويشكل تحدي كبير. وعليه فان كل المراكز البحثية العالمية في السرطان والمؤتمرات المتخصصة بهذا البلاء تسعى الى ايجاد مداخل وانظمة جديدة لعلاج السرطان والوقاية منه.

مرض السرطان يتصف بطبيعيه كونه مرض غير مستقر وغير متجانس بمكوناته وسلوكه واستجابته للعلاج. اما العلاجات التقليدية المستخدجمة حاليا (العلاج الدوائي الكيمياوي، والعلاج الجراحي، والعلاج الفيزياوي الذري) فانها لم تصل الى مستوى قناعة الطبيب ومرضى السرطان انفسهم بالمستوى الذي يزرع الامل بالشفاء من المرض. تلك الامور جعلت المختصين بالبحوث السرطانية يسعون جاهدين للبحث عن طرق ومداخل جديد لعلاج السرطان او الوقاية منه وبناءا عليه فان الاهتمام بايجاد علاج للسرطان قد استحوذ على اهتمام كل العلماء بالعالم.

بالرغم من التطورات الكبيرة في تطوير وصناعة الدواء في العالم الا ان مبدأ **"الرجوع للطبيعة"** صار شعاراً متميزاً مرفوع في كل انحاء العالم. أُمّنا الطبيعة تعتبر مصدراً خصباً كبيراً وليس له حدود للنواتج الطبيعية ضد الاحياء المجهرية والسرطان. والنباتالت هي واحدة من اهم مكونات الطبيعة التي توفر فوائد جمة في عدة مجالات. فبالاضافة الى دور النباتات كمصدر رئيسي للغذاء فانها تشكل مصدرا كامنا للعناصر المضادة للسرطان. هناك حوالي 250000 نوع من النباتات على كرتنا الارضية ومنها هناك حوالي 1000 نوع يمتلك خصائص مضادة للسرطان . اثمرت جهود مراكز ابحاث السرطان العالمية عن اكتشاف العديد من عقارات المضادة للسرطان التي تم اقرارها قانونيا من قبل الجهات العلمية الرسمية المعتمدة عالميا مثل الوكالة الامريكية للغذاء والدواء مثل دواء التاكسول والتاكسوتير والفنكرستين والفنابلاستين والنافلبين والايتوبساید والتنيبوساید والتوبوتيكان والايرينوتيكان. انتاج تلك الادوية شجع الباحثين في مجال السرطان الى التركيز بشكل متميز على النباتات كونها مصدر مهم للأدوية المضادة للسرطان. وفي حزيران عام 2005 تم عقد مؤتمر دولي كبير في لندن حول المصادر الطبيعية لأكتشاف وتطوير الادوية تم وضع مداخل رصينة لدعم بحوث المسح الميداني للمواد الطبيعية في مختلف بقاع الارض لغرض ايجاد ادوية جديدة فاعلة ضد السرطان. وكان معهد السرطان الامريكي على رأس تلك الجهات التي تبذل جهودا كبيرة في المسح الميداني حول فعاليات المستخلصات النباتية ضد السرطان. تم فحص اكثر من 115000 مستخلص نباتي ضد الخلايا السرطانية في المعهد المذكور للفترة بين عام 1990 و 1996 تم اقرار حوالي 20 دواء للسرطان نزلت للسرق للاستهلاك البشري ومنها عقار

الباكلوتامايد و البزانترين والدوسيتاكسل والفورميستان والتاكسول وغيرها. ويبقى هناك امر يجب ان يبقى في الحسبان هو انه بالرغم من اكتشاف العديد من المركبات الكيماوية الفاعلة ضد السرطان في النباتات الا انه يبقى هناك اعداد كبيرة من الجزيئات الدقيقة في النباتات تنتظر البحث الدقيق لمعرفة فاعليتها ضد السرطان والتي يمكن ان تحوي طلقة الرحمة في رأس السرطان.

اثبتت الادوية المستخلصة من النباتات فاعليتها المعنوية في علاج السرطان مما جعل المراكز العالمية للسرطان ان تركز اهتمامها على النباتات المحلية لأكتشاف عقارات جديد اكثر فاعلية. وضع معهد السرطان الامريكية ستراتيجية جديدة لدراسة فاعلية المركبات الغير مدروسة على الخلايا السرطانية النامية في المختبراملين ان تقود تلك الستراتيجية الى اكتشاف ادوية جديدة للسرطان . في الوقت الحاضر تم تخصيص ثلاثمائة بليون دولار ضمن استثمارات الادوية في العالم للبحث عن المواد الفاعلة ضد السرطان في النباتات بدلا من استخدام اسلوب التخليق الصناعي. وفي العراق هناك حملة كبيرة تقودها وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/ دائرة البحث والتطوير لدعم مشاريع الادوية العشبية واستخامها في انتاج الادوية. جرى مسح كبير حول النباتات الطبية في الدول المتطورة كمصادر غنية بالمواد الفاعلة ضد السرطان في حين معظم الدول النامية والفقيرة فبالرغم من امتلاكها على خزين كبير للنباتات الطبية الا انها لازالت لم تكتشف ولم تجرى عليها اية محاولات لمعرفة فاعليتها الطبية ضد السرطان. والعراق هو احد تلك الدول النامية التي تمتلك انواع كثيرة من النباتات ذات الفوائد الطبية الجمة والتي تحوي مواد قد تكون ذات فاعلية كبيرة لتصبح دواء ناجح للسرطان او للوقاية منه.

العراق غني بالنباتات الطبية حيث يمتلك زهاء 4000 نوع من النباتات التي خصائص طبية وصيدلانية التي يمكن اكتشافها وتطويرهخا الى ادوية فاعلة ضد السرطان. وعليه فان وضع برنامج بحثي كبير لغرض عمل مسح ميداني لغربلة النباتات العراقية كلها من اجل التحري عن المواد الفاعلة ضد السرطان يمكن ان يؤدي الى انتاج ادوية جديدة وقوية للسرطان. وباءا على ذلك سعى المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية ومنذ عهام 1999 الى تبني ذلك المشروع الكبير وشرع بوضع الخطوات الجريئة في فحص وجود المركبات ذات الخصائص الفاعلة ضد السرطان في النباتات المحلية العراقية مستخدما تقنيات الخلايا السرطانية المزروعة في المختبر وتقنية الستخدام الحيوانات المختبرية الحاملة للسرطان كموديل مماثل للبشر. كانت النتائج مثمرة وواعدة جدا من اجل الوصول للهدف الكبير في انتاج الادوية. ولو توفرت الاجهزة العلمية الحديثة والمواد العلمية المتطورة لكان سير الابحاث يمشي بشكل اسرع وبخطى اكبر وبنتائج اثمر. تم لحد الان تجريب المستخلصات النباتية لاكثر من 30 نوع من النباتات العراقية على الخلايا السرطانية وعلى الحيوانات الحاملة للسرطان واعطت بعض المستخلصات نتائج مثيرة جدا. شملت النباتات المدروسة نبات السعد والعنب والهيل والتين والتمر والصفصاف والشيح ولسان الحمل والدفة والسبحبح والقريص وسم الفراخ والشاي الاسود والشاي الاخضر والميرامية والعليق والكتان والزيتون الحبة السوداء والثوم واليقطين والمديد وغيرها وفي الخطة اجراء مسح لكل النباتات الطبية التي تم الاشارة اليها في القرآن الكريم او في الكتب العلمية وكتب التداوي بالاعشاب او تلك التي اصبحت معروفة ضمن التقاليد المتوارثة من السلف القديم.

بالاضافة الى النباتات التي اصبحت تشكل مصدر مهم لأدوية السرطان فان البحوث اتجهت الى استخدام بعض المواد البيولوجية الاخرى ضد السرطان مثل سوموم ومستخلصات البكتريا ومستخلصات الفطريات وغيرها من الكائنات. وفي المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية تم تجريب تلك المواد على الخلايا السرطانية في المختبر وفي داخل الجسم الحي لغرض قياس فاعليتها في قتل الخلايا السرطانية والتي اعطت ايضا نتائج واعدة في سبيل التوصل الى علاج للسرطان. تلك النتائج شجعت الباحثين في المركز المذكور لتوجيه قسم كبير من دفة ابحاثهم حول تلك المواد البيولوجية والتي ستشمل العديد من انواع البكتريا والفطريات والاحياء الاخرى.

الأستاذ الدكتور ناهي يوسف ياسين
أستاذ في وراثة السرطان
مدير عام المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية

تأثير المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في نمو الخلايا السرطانية في الزجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران

شلال مراد حسين؛ كامل فهد خزعل؛ ناهي يوسف ياسين

استهدفت الدراسة تأثير استخدام تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي 70% لاوراق نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* على نمو خلايا البلازما السرطانية SU0.099 وكذلك دراسة تأثيراته الفسلجية والدوائية من خلال تجارب اجريت على الفئران.

تضمنت التجربة الاولى تحضير المستخلص الكحولي 70% لاوراق نبات سم الفراخ حيث بلغت نسبة الاستخلاص 15.4%.

اما التجربة الثانية تضمنت تنمية خط خلايا البلازما السرطانية (Plasmacytoma) SU0.099 واكثارها.

وفي التجربة الثالثة درس تأثير استخدام تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي 70% لاوراق النبات (3.6، 7.25، 15.5، 31، 62، 125) مايكروغرام/ ملليلتر على نمو خلايا البلازما السرطانية SU0.099 في الزجاج حيث اظهرت الدراسة تأثير فعال للمستخلص في تثبيط نمو الخلايا المذكورة وخاصة في التراكيز العالية وطول الفترة الزمنية للحضن.

اما التجربة الرابعة درست فيها سمية المستخلص بأستخدام الفئران وبجرع متدرجة عن طريق الفم والحقن بالبريتون حيث لم يظهر اي تأثير واضح للمستخلص في كل الجرع ولغاية 220 ملغم/ كغم من وزن الجسم عن طريق التجريع، اما طريقة الحقن بالبريتون فقد اظهرت ان LSD50 للمستخلص بلغت 1348 ملغم/ كغم من وزن الجسم.

وفي التجربة الخامسة استخدمت ثلاث جرع من المستخلص عن طريق الفم (100، 150، 200 ملغم/ كغم) وثلاث جرع عن طريق الحقن بالبريتون (50، 100، 150 ملغم/ كغم) من وزن الجسم يوميا ولمدة (30 يوم) حيث اظهرت نتائج الدراسة وجود زيادة معنوية ($P< 0.05$) في عدد كل من كريات الدم الحمر وتركيز الهيموكلوبين ومعدل حجم الخلايا المرصوص وزيادة معنوية ($P<0.05$) في مستوى انزيم الفوسفوتيز الحامضية Acid phosphotase وكذلك زيادة معنوية ($P<0.05$) في الاوزان النهائية لحيوانات التجربة، بالاضافة الى ملاحظة بعض التغيرات التنكسية الطفيفة في خلايا الكبد متمثلة بوجود تفجي الخلايا الكبدية وتلون هيولي الخلايا بالحمضية مع ارتشاح عدة بؤر من الخلايا وحيدة النواة في المتن الكبدي، اما الكلى فقد اظهرت تغيرات تنكسية بسيطة في بطانة النبيبات متمثلة بتورم الخلايا وارتشاح بغض الخلايا الالتهامية في حين اظهر الطحال فرط تنسج اللب الابيض (جسيمات مالبيجي) مع ارتشاح خلايا النواء وكبر في حجم الطحال لحيوانات مجموعتي المعالجة.

نستنتج من الدراسة الحالية ان المستخلص الكحولي 70% لاوراق نبات سم الفراخ تسبب في تثبيط نمو خلايا البلازما السرطانية في الزجاج وذلك بسبب احتواء المستخلص على مواد قد تؤدي الى ايقاف انقسام الخلايا من خلال تأثيرها على تصنيع البروتين والاحماض النووية. وكذلك سبب زيادة معنوية في عدد كريلت الدم الحمر وتركيز الهيموكلوبين ومعدل حجم الخلايا المرصوص وهذا تاتج من ان المستخلص يحوي على عنصر الحديد وكذلك يمكن ان يحفز نخاع العظم على انتاج كريات الدم بالأضافة الى زيادة فعالية الخلايا البلعمية من خلال الزيادة في مستوى خميرة Acid phosphotase وزيادة وزن الحيوانات في مجاميع المعاملة.

دراسة تأثير الكحول الاثيلي والهكسان لثمار نبات الهيل *Eleettaria cardamomum* (cardamom) في خطوط الخلايا السرطانية والخلايا اللمفاوية للدم المحيطي للانسان خارج الجسم

كفاح جبار شاكر؛ ناهي يوسف ياسين

ازداد الاهتمام بعلاج السرطان في الاونة الخيرة والبحث عن طرق متنوعة في العلاج. فقد تناول البحث العلمي حاليا وخصوصا في العراق على طب الاعشاب كونة احد الوسائل البديلة الواعدة للعلاج. وتعد التوابل من النباتات المصنفة حاليا ضمن مضادات السرطان وقد انتخبت ثمار نبات الهيل لهذه الدراسة.

هدفت الدراسة الحالية الى استخلاص المكونات النباتية الفعالة لثمار نبات الهيل *Eleettaria cardamomum* بعدد من المذيبات العضوية، ودراسة تأثير تلك المستخلصات في خطوط الخلايا السرطانية نوع Hep-2 وRD والخلايا اللمفاوية للدم المحيطي للانسان خارج الجسم.

استخلصت من ثمار نبات الهيل مجموعتين من المستخلصات النوع الاول استعمل مذيب الكحول الاثيلي المطلق 95%، والنوع الثاني استعمل مذيب الهكسان الطبيعي للاستخلاص، بلغت نسبة الاستخلاص 10% لمستخلص الكحول الاثيلي و7.5% لمستخلص الهكسان. تم الكشف عن المركبات لمستخلص الكحول الاثيلي، ومستخلص الهكسان عن طريق استعمال الكواشف التمهيدية. واظهر مستخلص الكحول الاثيلي كفاءة عالية في نسبة وجود المركبات الفعالة مثل القلويدات والفينولات مقارنة بمستخلص الهكسان.

قدرت الجرعة الوسطية المميتة (LSD50). ودرست على ذكور الفئران المختبرية البيض، وكانت النتيجة 5.07 غم/ كغم من وزن الجسم 5.37 غم/ كغم من وزن الجسم والمستخلصين الكحول الاثيلي والهكسان على التوالي.

وتم تنمية خطوط الخلايا السرطانية نوع Hep-2 وRD، واكثارها بطريقة الزراعة النسيجية في ظروف مختبرية معقمة.

درست الفعالية المثبطة لنمو الخلايا السرطانية لسرطان الحنجرة البشري Hep-2 بعد معاملتها بثلاث مدد مختلفة (24، 48 و72) ساعة وللمستخلصين الكحول الاثيلي، الهكسان بتخافيف عشرية ابتداءا بتركيز 0.001 ملغم/مل وانهاءا بتركيز 100 ملغم/مل. وتم قراءة الكثافة الضوئية لخطوط الخلايا السرطانية المصبوغة بالصبغة الحمراء المتعادلة بطول موجي 492 nm بوصفه مقياسا لنمو الخلايا الحية، كانت النتيجة تثبيط عالي المعنوية بمستوى 0.05 لمستخلص الكحول الاثيلي ومستخلص الهكسان وللتراكيز 100.10.1 ملغم/مل و100، 10 ملغم/مل على التوالي مقارنة بالسيطرة ويزداد بزيادة مدة الحضن.

استعملت بعض التراكيز المحضرة بطريقة التخافيف الثنائية لمعرفة ادنى تركيز يمكنة تثبيط نمو الخلايا السرطانية وهي (0.12، 0.25، 0.5 و1.0) ملغم/مل لمستخلص الكحول الاثيلي و(1.25، 2.5، 5 و10) ملغم/مل لمستخلص الهكسان، وكان ادنى تركيز يمكنة تثبيط نمو الخلايا السرطانية هو (0.5) ملغم/مل لمستخلص الكحول الاثيلي و(2.5) ملغم/مل لمستخلص الهكسان لمدة 72 ساعة.

كررت خطوات العمل في التجربة السابقة مع استبدال خط الخلايا السرطانية Hep-2 بخط الخلايا السرطانية RD وتم دراسة تأثير مستخلصي الكحول الاثيلي والهكسان في نمو تلك الخلايا بعد المعاملة لثلاثة ايام، كانت النتيجة تثبيطا قويا لمستخلص الكحول الاثيلي والهكسان وللتراكيز 100.10.1 ملغم/مل و 100، 10 ملغم/مل على التوالي.

اختبر المستخلص بعد الخزن بدرجة -20ْم لمدة ثلاثة اشهر وقد اتصف بالثبوتية. اجريت الدراسة الوراثية لخطوط الخلايا السرطانية بعد معاملتها بالمستخلصين الاثيلي والهكسان لثلاثة ايام، اذ لم تظهر اي تغيرات كروموسومية في حدود التراكيز العالية لمستخلص الكحول الاثيلي 100.10.1 ملغم/مل و 100، 10 ملغم/مل لمستخلص الهكسان، مقارنة بالسيطرة.

كما درس نشاط المستخلصين في الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي للانسان بناءا على نتائج التغيرات في كل من نسب معامل الانقسام الخيطي والتغيرات الكروموسومية، اذ لم يظهر المستخلصان تأثيرات معنوية في معامل الانقسام الخيطي وللتراكيز (0.01، 0.1، 1.0، 10، 100) ملغم/مل ولم تكن هناك اي تغيرات كروموسومية.

تأثير المستخلصات الخام لعشب السعد *Cyperus rotundus* L.
في تثبيط نمو الخطوط الخلوية السرطانية

زيد عبد المنعم علي؛ اليس كريكور اغوب؛ ناهي يوسف ياسين

يعد هذا البحث دراسة استكشافية لفعالية مركبات الايض الثانوي لعشب السعد *Cyperus rotundus* L. بشكلها الخام في التأثير في نمو الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي، فضلاً عن دراسة قابلية تلك المركبات في العمل كمعدل مناعي للخلايا اللمفاوية البشرية. تضمنت الدراسة مايأتي:

أولاً: تم تحضير ثلاثة مستخلصات خام لعشب السعد باستعمال ثلاثة أنواع من المذيبات (الهكسان و الماء المقطر معاد التقطير والايثانول المطلق)، وقد تباينت نسب الاستخلاص بين مذيب وآخر اعتماداً على نوع المذيب وقطبيته، فضلا عن نوع المركب الفعال المذاب.

ثانياً: اختبرت الفعالية السُمية للمستخلصات الخام لعشب السعد في الخطوط الخلوية السرطانية (Ahmed – Mohammed – Nahi - 2003, Rhabdomyosarcoma, Human Epidermoid Larynx carcinoma)، والخلايا الطبيعية بثمانية تراكيز (Mouse Embryo Fibroblast) (7.81 , 15.62 , 31.25 , 62.5 , 125 , 250 , 500 , 1000 مايكروغرام/مليلتر)، وضمن مدد تعريض مختلفة (24 , 48 , 72) ساعة و72 ساعة فقط عند الخط الخلوي الطبيعي لجنين الفأر(MEF). كانت النتيجة وجود تأثير سُمي واضح ، وبمعنوية عالية لتلك المستخلصات الخام في نمو الخلايا السرطانية، وخلال المدد الثلاثة من التعريض، علماً إن شدة السُمية تزداد بزيادة التركيز ومدة التعريض، لذا فان التأثير السُمي لتلك المستخلصات الخام لعشب السعد يعتمد على التركيز ومدة التعريض، في حين لم يكن هنالك تأثير واضح وذو معنوية لنفس المستخلصات الخام في نمو الخلايا الطبيعية (MEF) لذا قد يكون للمركبات الايضية لعشب السعد بعض التخصص في التأثير السُمي في نمو الخلايا السرطانية دون الطبيعية. تم إيجاد التركيز السُمي لنصف عدد الخلايا السرطانية (CC50) (Cytotoxic Concentration) المعاملة بالمستخلصات الخام. وكان المستخلص الهكساني أكفأ المستخلصات الخام سُميةً في الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) بتركيز109 مايكروغرام/مليلتر. وفي الخط الخلوي السرطاني (RD) بتركيز 69 مايكروغرام/مليلتر. أما في الخط الخلوي السرطاني (AMN-3) كان المستخلص المائي الخام أكفاء المستخلصات الخام سميةً بتركيز 62.5 مايكروغرام/مليلتر. وكان الخط السرطاني (AMN-3) أكثر الخطوط الخلوية السرطانية حساسيةً للمستخلصات الخام، في حين كان الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) اقل الخطوط الخلوية السرطانية حساسية للمستخلصات الخام.

ثالثاً: دراسة التأثير المناعي للمستخلصات الخام لعشب السعد في انقسام الخلايا اللمفاوية البشرية قبل وبعد إضافة العامل المشطر (PHA) ضمن مدة تعريض 72ساعة. وجد قبل إضافة الـ(PHA) وعند التراكيز الواطئة (الهكساني 62.5 و المائي 125 والايثانولي 7.81 مايكروغرام/مليلتر)

ازدياداً في أعداد الخلايا اللمفاوية وبفروق معنوية عالية كلما ازدادت التراكيز وصولا عند تركيز معين (الهكساني 62.5 و المائي 125 والايثانولي 125 مايكروغرام/مليلتر) انخفضت بعده تلك الأعداد وبفروق معنوية عالية وصولا إلى التركيز العالي 1000مايكروغرام/مليلتر لجميع المستخلصات الخام. وهذا يدل على أن لتلك المستخلصات الخام تأثيراً معدلاً مناعياً (Immunomodulatory effect) مُعتمداً في التأثير على التركيز بشكل أساسي. أما بعد إضافة الـ(PHA)، فكان هنالك تأثيراً معدلاً مناعياً أيضاً وبشكل تآزري (Synergistic effect) بين المستخلصات الخام والمادة المشطرة (PHA) بحيث أدى إلى زيادة قابلية التعديل المناعي للمستخلصات الخام، أي إن تأثير المستخلصات الخام لعشب السعد بوجود العامل المشطر كان أكفأ من تأثير المستخلصات لوحدها.

رابعاً: دُرست طبيعة تأثير المستخلصات الخام لعشب السعد في الهيئة الكروموسومية للخطيين الخلويين (Hep-2) و (RD) قبل وبعد المعاملة بالمستخلصات الثلاثة (الهكساني، المائي، الايثانولي) الخام، وباستعمال ثلاثة تراكيز فقط على التوالي (15.62, 125, 500 مايكروغرام/مليلتر) وكانت النتيجة عن التركيز 15.62 مايكروغرام/مليلتر عدم وجود تأثير ملحوظ لتلك المستخلصات الخام على المستوى الكروموسومي بعد المعاملة بتلك المستخلصات الخام بالمقارنة مع الهيئة الكروموسومية قبل الإضافة، في حين لم تكن هنالك نتيجة عند كل من التركيزين (125, 500 مايكروغرام/مليلتر) بسبب شدة التأثير السُمي لهما. كما تم احتساب دليل الانقسام الخلوي (MI) (Mitotic Index) لنفس الخطيين السرطانيين السابقين قبل وبعد المعاملة بالمستخلصات الخام. فكان دليل الانقسام الخلوي (MI) للخلايا المعاملة بالمستخلصات الخام اقل من غير المعاملة بتلك المستخلصات الخام، فالـ MI للخط الخلوي السرطاني (Hep-2) عند المستخلصات (الهكساني 24.3% و المائي 23.8% و الايثانولي 30.5%) مقارنة بالسيطرة 43.7% ؛ أما الخط الخلوي السرطاني (RD) فقد كان الـ (MI) عند المستخلصات الخام (الهكساني 31.5% و المائي 35.2% و الايثانولي 40.4%) مقارنة بالسيطرة 58.2% ، مما يدعم وجود تأثير سُمي لتلك المستخلصات الخام في نمو الخطين السرطانيين خارج الجسم الحي. أما عند كل من التركيزين 125 و 500 مايكروغرام/مليلتر، ليس هنالك نتيجة تذكر بسبب التأثير السُمي العالي لذلك التركيزين للمستخلصات الثلاثة الخام عند ذلك الخطين السرطانيين.

تأثير مستخلصات الشاي الاخضر والاسود على انواع مختلفة من خطوط الخلايا خارج جسم الكائن الحي

عمر فخري سعيد؛ نبيل محمد جواد؛ ناهي يوسف ياسين

في الدراسة الحالية تم الاستخلاص المائي من اوراق الشاي الاخضر والاسود مع توكيد للمستخلصات الناتجة بواسطة طرق كيمياوية نوعية تقليدية حيث كانت النتيجة المجاميع التالية، ج1 (بولي فينولات الشاي الاخضر)، ج2 (تربينات الشاي الاخضر)، ب1 (بولي فينولات الشاي الاسود) بالاضافة الى ب2 (تربينات الشاي الاسود).

تم تقدير الجرعة المميتة الوسطية (جم-50) للمستخلصات (ج1) و(ب1) على اناث الفئران وكانت النتيجة 5.356 واكثر من 5 غم لكل كغم من وزن الجسم على التوالي.

تم نحديث طريقة لقياس الكثافة الضوئية لخطوط الخلايا الرطانية المصبوغة بصبغة البنفسج البلوري وبطول موجي 492 نانوميتر كمقياس لنمو الخلايا وكانت هذة الطريقة على نفس القدر من الحساسية للطريقة الاصلية.

قدرت الفعالية المثبطة لنمو خطوط الخلايا السرطانية لسرطانات الغدة اللبنية الفأرية، العضلة البشرية والحنجرة البشرية للمستخلصات (ج1)، (ج2)، (ب1) و(ب2) بعد المعاملة لمدة ثلاثة ايام بتخفيفات ثنائية ابتداء بتركيز 1000 مايكروغرام /مل وانتهاء بتركيز 0.0. كانت النتيجة تثبيط عالي المعنوية لكل مستخلص على الانواع الثلاثة من خطوط الخلايا السرطانية كما ان استجابة خطوط الخلايا السرطانية تختلف اختلافا عالي المعنوية من خط الى اخر. الجرعة المثبطة الوسطية للمستخلص (ج1) و(ب1) على التوال لخط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأرية هي تقريبا 258 و419 مايكروغرام/مل، من الناحية الاخرى كانت النتيجة للمستخلصات (ج2) و(ب2) على وجه التقريب 252 و675 مايكروغرام/مل. وبالنسبة لخط خلايا سرطان العضلة البشرية كانت الجرعة المثبطة الوسطية للمستخلصات (ج1) و(ب1) تقريبا 114 و189 مايكروغرام/مل على التوالي، اما بالنسبة للمستخلصات (ج2) و(ب2) فالنتيجة تقريبا 254 و255 مايكروغرام/مل على التوالي. بخصوص خط خلايا سرطان الحنجرة البشرية كانت الجرعة المثبطة الوسطية للمستخلصات (ج1)، (ج2)، (ب1) و (ب2) تقريبا 341، 323، 305 و284 على التوالي. من الناحية الاخرى جرى اختبار الفعالية المثبطة للنمو لبوليفينات الشاي الاخضر والاسود على الخلايا الطبيعية المولدة للالياف والمأخوذة من جنين فأر، وكانت النتيجة عدم وجود تأثير مثبط للنمو على الخلايا الطبيعية.

كما ان الاختبار الذي اجري للكشف عن الكروموسومات لخطوط الخلايا السرطانية المعاملة بالمستخلصات (ج1) و(ب1) وبتركيز 1000، 500 و 250 مايكروغرام/مل ولمدة ثلاثة ايام اظهر نتيجة سلبية.

بالمحصلة تم استخلاص اربعة مجاميع من المستخلصات من الشاي الاخضر والاسود. البولي فينولات للشاي الاخضر والاسود اظهرت مدى واسع من السلامة في الفئران. جميع المستخلصات اظهرت تثبيطا معنويا لنمو خطوط الخلايا السرطانية. بالرغم من ذلك اظهرت البولي فينولات

الشاي الاخضر فعالية مثبطة لنمو خطوط الخلايا السرطانية لسرطانة الغدة اللبنية الفأرية والعضلة البشرية اقوى من مثيلاتها. لكن بالنسبة لخط خلايا سرطان الحنجرة البشري كان تثبيط بولي فينولات الشاي الاخضر من الناحية اللاخرى اظهر تربينات الشاي الاخضر فعالية مثبطة لخطوط الخلايا السرطانية لسرطانة الغدة اللبنية الفأرية والحنجرة البشرية اقوى من مثيلاتها في الشاي اللاسود. اما بالنسبة لخط خلايا سرطان العضلة البشرية فالنتيجة كانت تقريبا متماثلة لتربينات الشاي الاخضر والاسود. وعلى العكس لم تظهر بولي فينولات الشاي الاخضر والاسود تأثيرا معنويا على الخلايا الطبيعية.

تأثير بعض المستخلصات النباتية المحلية على الخلايا الطبيعية والسرطانية (خارج الجسم)

چهان فاضل اشرف؛ خلود السامرائي؛ ناهي يوسف ياسين

استمرت فترة البحث من نيسان 2002 الى شباط 2004 وشملت عدة محاور وكان الهدف من الدراسة اختبار الفعالية السمية والفعالية التثبيطية لنمو الاحياء المجهرية والخلايا السرطانية والفعالية ذات الحماية الوراثية لنباتات طبية عراقية مستخلصة بعدة مذيبات مختلفة.

النباتات التي استخدمت هي اوراق مجففة لنباتات اليقطين والجذور المجففة لنبات الزنجبيل (العرق الحار) والبذور المجففة لنبات الحرمل. المستخلصات النباتية تمتلك فعل مثبط ضد بعض خطوط الخلايا السرطانية Hep-2 وRD وقد شملت الدراسة النقاط التالية:

1. المستخلصات النباتية تمتلك فعالية تثبيطية ميكروبية جيدة تجاه البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والتي شملت (*E. coli, S. aureuse, P. aurogenosa*) في تراكيز مختلفة (0.5، 1، 5 و10) ملغم/مل.
2. قدرت سمية المستخلصا النباتية على الخلايا اللمفاوية البشرية لاربع تراكيز (1000، 100، 10 و1) مايكروغرام/ مل لمدة ثلاثة ايام من المعاملة بالمستخلص وقد تم استخدام فحص (MTT) القصير الامد. ولم نجد تأثيرا ساما للمستخلصات النباتية على الخلايا اللمفاوية البشرية.
3. استخدمت المذيبات التالية (الهكسان، الكلوروفورم والميثانول) لاستخلاص نباتات اليقطين والزنجبيل والحرمل واختبار الفعالية التثبيطية لستة تراكيز مختلفة (0.1، 1، 10، 100، 1000 و10000) مايكروغرام/ مل على بعض الخطوط السرطانية البشرية Hep-2 وRD باستخدام فحص الصبغة الحمراء المتعادلة.
4. المستخلصات النباتية والتي حضرت باستخدام الهكسان والكلوروفورم والزنجبيل باستخدام التراكيز التالية (500، 250 و100) مايكروغرام/ مل ولنبات الحرمل (2.5، 50، 100)

مايكروغرام/ مل بينت الفعل المثبط للتغيرات الكروموسومية وتكوين التبادل الكروماتيدي الشقيقي في الخلايا اللمفاوية البشرية.

5. اوضحت النتائج ان التراكيز المثالية للمستخلصات النباتية المذكورة سابقا تمتلك فعالية وقائية والتي تجسدت من خلال فعالية معامل الانقسام الخيطي ومعامل التضاعف وتوالي دورة الخلية واختزال الزيغ الكروموسومي والتبادل الكروماتيدي الشقيقي.
6. بينت النتائج ان الفعالية المطفرة للأدوية المضادة للسرطان (MTX) قد ازدادت اعتمادا على زيادة التركيز تدريجيا ولهذا استخدمت التراكيز (50، 25 و10) مايكروغرام/ مل في التجارب السابقة والوقت المنتخب لتأثير الدواء كان لمدة 24 ساعة. الفعالية التطفيرية والسمية للدواء شملت اختزال معامل الانقسام الخيطي ومعامل التضاعف وتوالي دورة الخلية للخلايا اللمفاوية المحيطية وزيادة الزيغ الكروموسومي والتبادل الكروماتيدي الشقيقي.

تاثير المستخلصات الخام لنبات الميرمية *Salvia triloba* L. f. على الخطوط السرطانية والمتحولة والطبيعية

عبد الله ابراهيم صالح؛ بدري عويد العاني؛ ناهي يوسف ياسين

مع استمرار البحث عن ادوية جديدة لعلاج مرض السرطان، تبرز المواد التي تقضي على الخلايا السرطانية دون التأثير على الخلايا الطبيعية كعلاجات محتملة للتخلص من هذة الخلايا الخبيثة، ويمثل هذا الجهد العلمي دراسة أولية لمعرفة تأثيرات اثنين من المستخلصات الخام لنبات الميرمية *Salvia triloba* L. f. على ثلاثة خطوط سرطانية بشرية وخط خلايا سرطانية فأري وخطي خلايا متحولة وخطي خلايا طبيعية.

حضر مستخلصان احدهما بالماء المقطر المغلي والاخر بالميثانول المطلق من الاوراق المجففة لنبات الميرمية، وبلغت نسبة الحاصل الناتج من كل من عمليتي الاستخلاص المائي والكحولي 9.8 و22.4%، على الترتيب.

وشملت الخطوط الخلوية المدروسة كلا من خط خلايا الحنجرة البشري (Hep-2) وخط خلايا سرطان العضلات المخططة البشري (RD) وخط خلايا الارومة الدبقية البشري (AMGM5) وخط خلايا سرطان الثدي الفأري (AMN3) وخط خلايا كلية القرود الخضراء الافريقية - خلايا متحولة - (Vero) وخط الخلايا الفأرية مولدة الالياف المتحولة والحاملة للجين البشري المسؤول عن البروتين المستقبل لفيروس شلل الاطفال (L20B) وخط الخلايا الطبيعية الفأرية الجنينية مولدة الالياف (MEF8) والخط الطبيعي لخلايا الجرذ الجنينية مولدة الالياف (REF3).

وظهرت لكل من المستخلصين - المائي والمثيلي - تأثيرات مثبطة معتمدة على فترة التعريض على ثلاث خطوط خلوية سرطانية، هي Hep-2، RD و AMN3؛ فيما اظهرت خلايا AMGM5 مقاومة لتأثير المستخلصين، اذ لم تتأثر الا بالتراكيز العالية من اي من المستخلصين

وذلك في اليوم الاخير من زمن التجربة. كما ان نمو كل من خلايا Hep-2، RD و AMN3 بتأثير من المستخلصين كان نموا ثنائي الطور خلال 48 ساعة الاولى من زمن التعريض، اذ سجلت زيادة في نمو هذه الخلايا بتأثير التراكيز الواطئة من المستخلصين، فيما انخفضت نسبة نموها بتأثير التراكيز العالية.

وسجل أثر تثبيطي أقل للمستخلصين على الخلايا المتحولة L20B وVero مقارنة مع تأثيرهما على الخلايا السرطانية - بما فيها الخلايا الاكثر مقاومة وهي خلايا AMGM5- مما يؤشر التأثير غير الضار لهذين المستخلصين على خلايا الكلية والخلايا غير الخبيثة. ولم يسجل تأثير تثبيطي كبير لأي من المستخلصين على خطي الخلايا REF3 وMEF8 الطبيعيين، وهم مايدل على تخصص هذين المستخلصين ضد الخلايا الخبيثة. وسجل تأثير معدل للمناعة لكل من المستخلصين المائي والكحولي عند اختبار تأثيرهما على الخلايا اللمفاوية البشرية.

تأثير مادة حليب التين على سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران وفي خطوط الخلايا السرطانية في المختبر

باسم عبد الحسين جار الله؛ خليل حسن زناد؛ ناهي يوسف ياسين

سلطت هذه الدراسة الضوء على مادة حليب التين من خلال عدة اتجاهات، تضمن الاتجاة الاول دراسة سمية مادة حليب التين على خطوط الخلايا السرطانية المزروعة في الزجاج حيث اختبرت غلى خطي Hep-2 وAMN3 ولفترات تعريض مختلفة (24 و48 ساعة) وبتخافيف ثنائية مختلفة، وقرأت النتائج باستخدام صبغة المتعادل الحمراء وتم قياس نسبة امتصاص الصبغة باستخدام جهاز ELISA وحللت النتائج احصائيا باستخدام فحص تحليل التباين وعلى مستوى ($P < 0.05$) وكانت للخط Hep-2 كالاتي:

اظهر التركيز 312.5 مايكروغرام/ مليلتر صعودا الى التراكيز العالية فرقا معنويا عن مجموعة السيطرة بعد 24 ساعة من الحضن في حين اظهر التركيز 78.2 صعودا الى التراكيز العالية فرقا معنويا عن مجموعة السيطرة بعد 48 ساعة من الحضن.

بالنسبة للخط AMN3 فقد اظهر التركيز 156.3 صعودا الى التراكيز العالية فرقا معنويا عن مجموعة السيطرة بعد 24 ساعة من الحضن، اما التركيز 78.2 صعودا الى التراكيز العالية فقد اظهر فرقا معنويا عن مجموعة السيطرة بعد 48 ساعة من الحضن.

الاتجاه الثاني من الدراسة تناول دراسة التأثيرات السمية لمادة حليب التين في الفئران حيث استخرج الجرعة القاتلة الوسطية بعد حقن المادة داخل الخلب والتي كانت مساوية الى 30 مليغرام/ كغم من وزن الجسم، ثم عملت: تخافيف من مادة حليب التين (1, 3, 4, 5) مليغرام/ كغ من وزن

الجسم واختبرت على اربعة مجاميع من الفئران حيث حقنت داخل الخلب وبجرعة مقدارها 0.2 مليليتر يوميا لمدة ثلاثين يوما، بعدها قتلت الحيوانات ولوحظت التغيرات العيانية والتي بينت وجود علامات التهاب واحتقان ونزف حبري في الامعاء واحتقان الكبد والكليتين وتضخم الطحال وبنسب متفاوتة بين المجاميع الاربع، كذلك اجريت مقاطع نسيجية من الاعضاء اعلاه وبينت وجود احتقان في الاوعية الدموية للكبد والكليتين وتنكس ونخر شديد في خلايا الكبد والكليتين وظهر هنالك تضخم في الطحال وترسب صبغة الهيموسدرين بكميات كبيرة.

الاتجاه الثالث تناول دراسة التأثير العلاجي لمادة حليب التين على سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران حيث قسمت الفئران الحاملة للورم الى ثلاثة مجاميع مجموعة حقنت بمادة حليب التين بتركيز 5 ملغم/ كغم داخل الورم والمجموعة الثانية حقنت بنفس الجرعة داخل الخلب وتركت: فئران بدون حقن كمجموعة سيطرة، استمر الحقن لمدة 15 يوما واخذ خلال هذه الفترة حجم الورم ثم قتلت الحيوانات واخذت نماذج من الورم للدراسة النسيجية، اجري فحص تحليل التباين وبين وجود فرق معنوي بين مجموعتي المعالجة ومجموعة السيطرة على مستوى ($P < 0.05$) وكانت نسبة تثبيط حجم الورم 65.7% لمجموعة الحقن داخل الورم و59% لمجموعة الحقن داخل الخلب واظهرالفحص النسيجبي وجود منطق نخر ونزف وارتشاح كثيف للخلايا الالتهابية في مجموعة الورم كذلك اظهرت مجموعة الحقن داخل الخلب تلك التغيرات ولكن بصورة اقل.

تناول الاتجاة الرابع مقارنة تأثير مادة حليب التين بمادة PHA وماد الكولجسين على الخلايا اللمفاوية بدم الانسان المزروعة في المختبر من خلال عمل 6 تخافيف ثنائية من مادة حليب التين، واظهر التركيز 125 مايكروغرام/ مليليتر من الوسط الزرعي صعودا الى التراكيز العالية لمادة حليب التين تأثيرا ساما على الخلايا اللمفاوية في حين كان نسبة معامل الانقسام MI للتراكيز (62.5 و31.25) و0.13% و0.2% على التوالي وكان معامل الانقسام الارومات اللمفاوية Lymphoblast للتركيزين السابقين مساويا 15% و18% على التوالي وهي اقل من معامل الانقسام ونسبة الارومات اللمفاوية عند المعاملة بمادة PHA حيث كان معامل الانقسام مساويا لـ 0.6 ونسبة الارومات اللمفاوي 35%. وبخصوص الشطر الثاني من الدراسة فلم تعمل مادة حليب التين عملا مشابها لمادة الكولجسين ولجميع التراكيز المستخدمة في الدراسة والتي كانت مساوية لنفس التراكيز المستخدمة عند مقارنة حليب التين بمادة PHA.

تأثير المستخلص الخام لعشب الشيح *Artemisia herba alba* في تثبيط نمو الخلايا السرطانية في المختبر وفي علاج السرطان المغروس في الفئران

احمد حميد عبود؛ خليل حسن زناد؛ ناهي يوسف ياسين

أجريت الدراسة الحالية لغرض تقييم الفعالية السمية الخلوية للمستخلصين المائي والكحولي لعشب الشيح ضد نوعين من خطوط الخلايا السرطانية، الأول: خط سرطان ظهارة الحنجرة البشري والثاني: خط سرطان الظهارة الغدة اللبنية الفأري، وأيضاً لتقييم تأثير كلا المستخلصين على العديد من المعايير الوراثية الخلوية كمعامل الانقسام الخلوي ومعامل النضوج الخلوي ومعدل تبادل الكروماتيد الشقيقي/ خلية وكذلك دراسة توالي دورة الخلية ومعامل التضاعف، وقد تم دراسة هذه المعايير بعد زراعة الخلايا اللمفاوية من الدم المحيط للإنسان بوسط زرعٍ خاص وتعريضها إلى تراكيز مختلفة من المستخلصين ومقارنة النتائج مع مجموعتي سيطرة، احداهما تم معاملتها بالمذيب فقط وهو دارئ الفوسفات الملحي (سيطرة سالبة) والأخرى عوملت بأحد الأدوية المعروفة الاستخدام كمضاد للسرطان وهو السايكلوفوسفامايد (سيطرة موجبة).

وتمثل هذه الدراسة المحاولة الأولى لاستخدام المستخلص المائي لعشب الشيح كمادة ضد السرطان بعد إعطاء جرع مختلفة من المستخلص لفئران تم غرسها بخلايا سرطان الظهارة للغدة اللبنية الفأري وقد كانت الخطوة الأولى في اختيار الجرعة العلاجية هو تحديد الجرعة المميتة الوسطية للفئران حيث كانت تساوي 5.5 غم/كغم من وزن الجسم لذا كانت الجرعة العلاجية (0.5، 0.25، 0.125 غم/ كغم من وزن الجسم) وقد أعطيت عن طريقين (عن طريق الخلب وعن طريق الفم). لقد استخدم اثنان من المعايير لتقييم الفعالية المضادة للسرطان وهما النسبة المئوية لتثبيط نمو الورم وحجم الورم النسبي (%).

لقد أظهرت دراسة الفعالية السمية الخلوية في الزجاج وجود تأثيرات مهمة لكلا المستخلصين على خطي الخلايا السرطانية بشكل متناسب مع وقت التعرض وتركيز المستخلص. وقد أوضحت النتائج وجود تأثير مهم لكل تراكيز المستخلصين بعد 72 ساعة من التعرض بينما كان للتراكيز العالية فقط مثل هذا التأثير بعد 24 ساعة. أما قيم الفعالية الخلوية (%) فأظهرت وجود فروقات مهمة متناسبة مع زمن التعرض حيث كان تأثير سمي متصاعد على الخلايا بزيادة التركيز المستخدم.

لقد أجريت الدراسة الخلوية بشكل متزامن مع دراسة فعالية السمية الخلوية حيث لوحظ بأن التغيرات الخلوية اعتمدت على التركيز المستخدم ففي التراكيز الواطئة (156.25 و312.5 مايكروغرام/ مل) فظهر وجود تثبيط للنمو شبيه بالرقع مع فقدان شكل الطبقة الأحادية مع علامات التنكس الخلوي، وعند زيادة التركيز (625 مايكروغرام/ مل) ظهرت أولى علامات التحلل الخلوي والذي يكون أكثر شدة عند التعرض إلى التراكيز العالية (1250، 2500، 5000

مايكروغرام / مل) وقد تمثلت هذه التغيرات بفقدان الحدود الخارجية للخلايا ووجود أعداد متزايدة من الخلايا الميتة وملاحظة كمية كبيرة من الحطام الخلوي.

لقد دلت نتائج البرنامج العلاجي للفئران الحاملة للورم على وجود فعالية عالية للمستخلص المائي في تقليل حجم الورم معتمداً على الجرعة ومدة العلاج حيث كانت أفضل النتائج بعد إعطاء الجرعة 0.5 غم/كغم عن طريق الخلب أو عن طريق الفم. كما بينت المقارنة بين حجم الورم النسبي للمجاميع المعالجة وحجم الورم النسبي لمجاميع السيطرة وجود فروقات مهمة احصائياً وطيلة فترة العلاج.

لقد كان التنخر والتليف هما السمتان البارزتان في المجاميع المعالجة بعد إجراء الفحص النسجي المرضي حيث زاد ظهورهما مع تقدم العلاج وبشكل مرتبط مع صغر حجم الورم لذا نلاحظ أن المراحل الأخيرة من العلاج تُظهر إن الخلايا السرطانية موجودة بشكل جزر صغيرة محصورة في نسيج ليفي كثيف.

أما الدراسة الوراثية الخلوية فان نتائجها تُظهر الفعالية المضادة للإنقسام وللتطفير لكلا المستخلصين فقد تسببا بنقصان مهم في معامل الانقسام الخلوي وكذلك في معامل النضوج الخلوي، أما معدل تبادل الكروماتيد الشقيقي/خلية فقد أُختزل بشكل مهم خصوصاً بعد معاملة الخلايا اللمفاوية بتراكيز العالية من كلا المستخلصين. بينما كانت نتائج دراسة توالي دورة الخلية ومعامل التضاعف معززة للنتائج السابقة حيث كان للمستخلصين تأثيراً مهماً في تقليل توالي دورة الخلية وبالتالي معامل التضاعف.

من كل ما تقدم يمكننا إن نستنتج إن المستخلصين المائي والكحولي لعشب الشيح لهما فعالية سمية عالية على خطي خلايا سرطان الحنجرة البشري والغدة اللبنية الفأري كما إن المستخلص المائي له فعالية مضادة للسرطان بعد استعماله في علاج السرطان المغروس في الفئران كما إن المستخلصين تسببا في فعالية مضادة للانقسام والتطفير بعد تعريض الخلايا اللمفاوية من دم الإنسان المحيطي المزروعة في المختبر.

دراسة تاثير مستخلصات أوراق نبات الدفلة *Nerium oleander* الخام والنقية في الخلايا الطبيعية وخطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج وفي الفئران البيضاء

رغد ضياء عبد الجليل؛ عبد العزيز مجيد الكبيسي؛ ناهي يوسف ياسين

تمّ فصل 32 مركباً مختلفاً من المستخلصات الخام المختلفة للأوراق، و28 مركباً من المستخلصات الخام المختلفة للسيقان، و36 مركباً من المستخلصات الخام المختلفة للأزهار أي بحصيلة أجمالي 96 مركب. تمّ تمّييز قسم من هذه المركبات المفصولة بمقارنتها بمركبات قياسية معروفة، في حين بقي القسم الآخر منها مجهولا، والمركبات المشخصة هي: Oleandrin، Nerigoside، Glucosylnerigoside، Odorside A، Oleaside E، Olaside A، Adynerin. وأختلف وجود هذه المركبات أعتمّادا على نوع المستخلص وجزء النبات المستخدم في الأستخلاص.

وفي تجارب تأثير المستخلصات الخام ومركب الأولندرين النقي على الوراثة الخلوية للخلايا اللمفاوية لدم الأنسان فقد وجد أن التركيز غير السام خلويا من المستخلص المثيلي هو 0.01µg/ml عند الحضن لمدة 1، 48 و72 ساعة على التوالي. وقد أدت جميع التراكيز الأعلى منها الى أنخفاض معنوي في قيمة معامل الأنقسام الخيطي Mitotic Index (MI) ومعامل التحول الأرومي Blast Index (BI) وأدت التراكيز الأدنى الى زيادة معنوية في قيمة MI و BI وهذه الظاهرة تسمى الـ Hormetic effect التي ظهرت في هذا المستخلص بشكل واضح. ولمستخلص الأسيتونايترايل والمثلين كلورايد فقد كانت التراكيز غير السامة خلوياً 0.1µg/ml ، 1µg/ml و0.01 µg/ml عند الحضن لمدة حضن 1 ، 48 ساعة. وقد أدت جميع التراكيز الأعلى منها الى أنخفاض معنوي في قيمة MI و BI. أما المستخلص المائي فقد كانت التراكيز غير السامة خلويا هي 1µg/ml و 0.1µg/ml و 0.01µg/ml والتراكيز الأدنى منها ولفترات الحضن (1، 48 ، 72) ساعة على التوالى، وأدت جميع التراكيز الأعلى منها الى أنخفاض معنوي في قيمة MI و BI . ولوحظت ظاهرة الـ Hormetic effect أيضاً عند التراكيز المختلفة من مركب الأولندرين لمدة ساعة واحدة مع الخلايا، إذ أدت التراكيز العالية الى أنخفاض معنوي في كل من MI و BI في حين أدى التركيز الواطيء الى زيادتها ولو بشكل غير معنوي، كانت التراكيز غير السامة هي 5ng/ml والتراكيز الأدنى منها وعند زيادة فترة الحضن لمدة 48 ،72 ساعة فقد كانت جميع التراكيز المستخدمة سامة خلوياً. وتمّ أستخدام المستخلصات الخام والأولندرين بأضافتها بدلا من المادة المشطرة PHA وأظهرت النتائج عدم وجود أي تحفيز لأنقسام الخلايا اللمفاوية وللتراكيز المستخدمة جميعها. كما تمّ أستخدام المستخلصات الخام والأولندرين بأضافتها بدلا من مادة الكولجسين ونتج عن ذلك وجود أنقسام خلوي متوقف عند الطور الأستوائي metaphase وبفارق معنوي لكل من دليل الأنقسام الخلوي ومعامل التحول الأرومي.

وجد تأثير أيجابي للمستخلص المثيلي الخام على دورة الخلية وتقدمها ولجميع التراكيز المستخدمة في التجربة ولمدة (1 ، 48) ساعة. وأزدادت أيضا قيم Replicative Index (RI) دون أن يؤثر ذلك على تركيب الكروموسوم إذ لم تظهر أستخدام التركيزين الوسطي والعالي أي فروق معنوية في Sister Chromatid Exchange (SCE) بالمقارنة مع السيطرة، بينما أدى التركيز الواطيء الى أنخفاض SCE وبنسبة تثبيط بلغت 6.67 % لمدتي تعريض (1 ، 48) ساعة. وظهر تأثير Hormetic effect بشكل واضح عند أطالة فترة المعاملة لمدة 72 ساعة إذ أختفت التأثيرات الأيجابية على دورة توالي الخلية CCP وأنخفضت قيم RI وأزدادت SCE عند أستخدام التركيز العالي وبشكل معنوي بالمقارنة مع السيطرة، وحدث العكس تماماً عند أستخدام التركيز الواطيء فظهر تحسن في دورة توالي الخلية الخلية Cell Cycle rogression (CCP). وزيادة RI وأنخفاض قيمة SCE معنوياً وبنسبة تثبيط 25 %، في حين لم يكن التركيز الوسطي مؤثراً. أما مستخلص الأسيتونايترال فقد أدت جميع التراكيز المستخدمة الى تسريع دورة الخلية وتقدمها، كما أزدادت RI وذلك عند حضن المستخلص مع الخلايا لمدة ساعة واحدة بالمقارنة مع السيطرة. وأدى ذلك في الوقت ذاته الى أنخفاض في SCE بالمقارنة مع السيطرة وبنسبة تثبيط بلغت 6.25 % و 6.25 % و 16.67 % للتراكيز 10µg/ml و 1µg/ml و 0.1µg/ml على التوالي. أما عند زيادة فترة الحضن لمدة أطول (48 ساعة) فقد أدى التركيزين العالي والوسطي الى تقدم دورة الخلية وزيادة RI معنوياً. رافق ذلك زيادة SCE وبشكل معنوي. بينما أدى التركيز الواطيء الى أنخفاض في قيمة SCE وبنسبة تثبيط 16.67 % بالمقارنة مع السيطرة (تأثير Hormetic effect). وعند زيادة فترة الحضن لمدة 72 ساعة لوحظ بطيء في دورة الخلية وأنخفاض RI وبشكل معنوي، ترافق ذلك مع حدوث زيادة معنوية في SCE عند أستخدام التركيزين الوسطي والعالي. وعلى العكس من ذلك أدى التركيز الواطيء الى أنخفاض معنوي في SCE وبنسبة تثبيط بلغت 25 % بالمقارنة مع السيطرة (تأثير Hormetic effect).

أختلف المستخلص المائي ومركب الأولندرين في تأثيرهما الأيجابي عن بقية المستخلصات إذ كانت جميع التراكيز المستخدمة منهما مؤثرة ولفترة التعريض التي أمتدت من الساعة الى الـ 72 ساعة فأدت الى تسريع دورة الخلية وتقدمها وأزدادت قيمة RI وبشكل معنوي ولجميع التراكيز والمعاملات. شمل هذا التأثير الأيجابي أيضاً حدوث أنخفاض في معدلات SCE معنوياً وذلك عند معاملة الخلايا لمدة ساعة واحدة وبنسب تثبيط بلغت 8.33 % و 16.67 % و 20.83 % للتراكيز 1µg/ml و 0.1µg/ml و 0.01µg/ml للمستخلص المائي على التوالي و16.67 % و 22.97 % و 25 % للتراكيز 50 picog/ml و 5 picog/ml و 0.5 picog/ml لمركب الأولندرين على التوالي. وعند زيادة فترة الحضن لمدة (48 ، 72) ساعة فأن التركيزين الواطيء والوسطي لم يحدثا ضرراً في التركيب الكروموسومي في حين أدى التركيز العالي الى زيادة معنوية في معدل SCE بالمقارنة مع السيطرة ولنفس مدة الحضن.

أما عن التأثير السمي على خطوط الخلايا السرطانية فقد وصل التركيز السام للمستخلصات (المثيلي والأسيتونايترال في المثلين كلورايد والمائي) الخام القاتل لنصف عدد الخلايا السرطانية CC_{50} الى 14 ng/ml، 5.5ng/ml ، 21.5 ng/ml لخط Hep-2 و 19.5 ng/ml و7 ng/ml

و21.5 ng/ml لخط AMN-3 عند حضنها لوحدها من دون مزج لمدة ساعة واحدة. وقد أنخفضت هذه التراكيز القاتلة لنصف عدد الخلايا عند معاملتها بالمستخلصات الخام لمدة 72 ساعة. كما أظهرت أغلب المستخلصات الخام سمّية أكبر على خط خلايا Hep-2 بالمقارنة مع خط AMN-3. أما عند أستخدام مركب الأولندرين لوحده لمدة ساعة واحدة فقد أنخفض التركيز السام والقاتل لنصف عدد الخلايا السرطانية CC_{50} الى 0.54picog/ml و 7.5 picog/ml لخط Hep-2 وAMN-3 على التوالي بالمقارنة مع المستخلصات الخام. وأدى المزج بيّن المستخلصين الخام المائي والمثيلي ومزيج المستخلصين المثيلي والأسيتونايترايل في المثيلين كلورايد الى أنخفاض التركيز السام القاتل لنصف عدد الخلايا السرطانية CC_{50} عند الحضن لمدتي تعريض (1 و72) ساعة بالمقارنة مع أستخدام المستخلصات الخام لوحدها دون مزج، ولكلا الخطين المستخدمين في التجربة. وأظهر الفحص الخلوى بوساطة المجهر الضوئي أن لأستخدام التراكيز الواطئة من المستخلصات الخام ومركب الأولندرين قدرة حالة وسامة خلويا عند فترات الحضن الثلاث تمّثلت بأحداث تغيرات واضحة في نمو الخلايا السرطانية وفقدانها الشكل الخلوي المميّز. بيّنت نتائج التحليل الكروموسومي للخط الخلوي السرطاني Hep–2 قبل إضافة أي مستخلص إلى وجود خلايا أقل من ثلاثية المجموعة الكروموسومية Hypotriploidy (64 كروموسوم) ولم يظهر أي أنقسام خلوي عند معاملة الخلايا لساعة واحدة بالمستخلصات ولجميع التراكيز المستخدمة في التجربة.

وفي التجارب البايولوجية داخل الجسم الحي *in vivo* فقد تمّ تحديد الجرعة الوسطية المميتة LD_{50} للفئران المختبرية وهي 168.43 mg / kg ، 206.11 mg / kg و211.68 mg / kg للمستخلص المائي والمثيلي والأسيتونايترال على التوالي ولمركب الأولندرين 21.525 µg / kg . أما في التجارب العلاجية على الفئران المختبرية الحاملة لسرطان الغدة اللبنية المغروس فقد كشفت نتائج العلاج بجرعات مختلفة من المستخلص المائي الخام أن الجرعتين 16.8 mg/kg و 33.6 mg/kg أظهرت ضمورا كاملا للورم بعد أعطاء الحيوان معدل 7 و10 جرع وبنسبة تثبيط بلغت 100% و99.9 % على التوالي. والجرعة الواطئة 8.4 mg/kg أظهرت أختزالاً لنمو الورم بنسبة 82.54 % بعد أعطاء الحيوان معدل 5 جرعات. واظهر حقن الفئران المصابة بالورم بالمستخلص المثيلي بالجرعة العالية 41.2 mg/kg ضمورا كاملا للورم وذلك بعد أعطاء الحيوان معدل 10 جرعات وبنسبة تثبيط بلغت 100% بالمقارنة مع مجموعتي السيطرة السالبة والموجبة التي استمّر نمو الورم فيهما دون توقف حتى موت الحيوان. ووجد أن أستخدام المستخلص بالجرعة الأوطأ التي مقدارها 20.6 mg/kg أظهرت أختزالاً لنمو الورم بنسبة 68.612 % وذلك بعد أعطاء الحيوان معدل 18 جرعة. كما أظهر أستخدام المستخلص بجرعة مقدارها 10.3 mg/kg أختزالاً لنمو الورم بنسبة 58.74 % وذلك بعد أعطاء الحيوان معدل 18.7 جرعة.

وأظهر حقن الفئران المصابة بالورم بمستخلص الأسيتونايترال الخام بالجرعة الوسطية 21.16 g/kg ضمورا كاملا للورم بعد أعطاء الحيوان معدل 11.2 جرعة وبنسبة تثبيط بلغت 96.2% . كما وجد أن أستخدام المستخلص بالجرعة الأوطأ التي مقدارها 10.58 mg/kg أظهرت

أختزالا لنمو الورم بنسبة 54.912 % وذلك بعد أعطاء الحيوان معدل 10.6 جرعة. أما أستخدام المستخلص بجرعة مقدارها 42.32mg/kg فقد أدى ذلك الى أختزال لنمو الورم بنسبة 62.303 %. وقد أظهرت جميع المجاميع العلاجية إطالة واضحة في فترة البقاء على قيد الحياة بالمقارنة مع مجاميع السيطرة. وقد تأثرت أوزان الفئران المختبرية بالعلاجات المستخدمة بالزيادة أو النقصان وبشكل يعتمّد على نوع المستخلص والجرع المستخدمة.

وكشف فحص المقاطع النسيجية للورم المعالج بالجرعتين الوسطية والعليا من المستخلصات الخام عن وجود نسيج ليفي يحيط ببقايا ورم الغدة اللبنية الخبيث مرتشح بعدد من الخلايا الألتهابية وحيدة النواة. وأظهرت الجرعات الواطئة وجود تنخر واسع داخل الورم الخبيث ومحاط بنسيج ليفي حبيبي حاو على الخلايا الألتهابية وحيدة النواة فضلاً عن خلايا العدلات. بيّن الفحص النسيجي للورم المعالج بالجرعة الواطئة والوسطية من مركب الأولندرين وجود مساحات من التنخر مع أرتشاح للخلايا الألتهابية وحيدة النواة. أما العلاج بالجرعة العالية فقد أظهر الفحص المجهري وجود مساحات أوسع من التنخر مع أرتشاح كثيف للخلايا الألتهابية وحيدة النواة وخلايا العدلات. في حين بيّن الفحص النسيجي لورم سرطان الغدة اللبنية المغروس في الفئران والغير المعالج عن وجود مراحل متقدمة من الورم السرطاني.

أظهرت هذه الدراسة أن المستخلصات الخام لأوراق نبات الدفلة من الممكن أن يكون علاجاً واعداً للسرطان وتبين ذلك من سلامة أستخدامها في علاج سرطان الغدة اللبنية الفأري. أيد ذلك ما أشارت اليه نتائج دراسة تأثير الجرع الواطئة من المستخلصات الخام ومركب الأولندرين في الوراثة الخلوية لخلايا نقي عظم الفئران المختبرية. إذ لم تؤدي الجرعة الواطئة من المستخلص المائي الى تغيرات مهمة أحصائياً في كل من MI وBI و C.A وSCE و RI وقد ظهر تحسن في دورة الخلية بالمقارنة مع السيطرة. أما مركب الأولندرين ومستخلص الأسيتونايترايل فقد وجدت ظاهرة الـ Hormetic effect بشكل واضح إذ أدت الجرع الواطئة (العلاجية) الى تحسين دورة الخلية وتقدمها وزيادة معنوية في BI مع عدم حدوث تغيرات مهمة في كل من MI وRI رافق ذلك أنخفاضاً في C.A وSCE. وحصل العكس من ذلك تماماً عند أستخدام الجرعة العالية من كلا المعاملتين. أما الجرع المستخدمة من المستخلص المثيلي فظهر تأثيرها الأيجابي في الخلية من خلال زيادة MI وBI وCCP ولكن رافق ذلك حدوث زيادة في الـ C.A و SCE .

دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات الصفصاف *Salix acmophylla* في نمو الخطوط الخلوية السرطانية والخلايا اللمفاوية الطبيعية للإنسان

أزهار موسى جعفر؛ هادي رسول حسن؛ ناهي يوسف ياسين

يعد هذا البحث دراسة استكشافية لفعالية مركبات الأيض الثانوي في مستخلصات نبات الصفصاف *Salix acmophylla* بشكلها الخام في التأثير في نمو الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي، إضافة إلى دراسة تأثيرها في الخلايا اللمفاوية البشرية.

وتضمنت الدراسة تحضير مستخلصات جزئين رئيسين من النبات هما القلف والأوراق (Bark and Leaves) باستعمال نوعين من المذيبات (الماء المقطر والايثانول)، وقد تباينت نسب المذيبات وكانت نسبة المستخلص المائي للاوراق L1 (20%) والمستخلص الايثانولي L2 (16%)، أما المستخلص المائي للقلف B1 فكانت نسبته (6%) في حين كانت نسبة المستخلص الايثانولي B2 (4%).

تم الكشف عن المركبات الفعالة للمستخلصات عن طريق استعمال الكواشف التمهيدية وكانت النتيجة احتواء النبات على الكلايكوسيدات، التانينات، السابونينات والفلايفونويدات ولم تظهر مؤشرات لوجود القلويدات والتربين والستيرويد في النبات.

أختبرت فعالية المستخلصات الخام لنبات الصفصاف في الخطوط الخلوية السرطانية (HEP-2&AMN-3) والخلايا الطبيعية (REF) بسبعة تراكيز مختلفة (1000, 500,250,125 62.5,31.25,15.6, مايكروغرام/ مليلتر). وضمن ثلاث مدد من التعريض (24 ،48 ، 72) ساعة، و72 ساعة فقط عند الخط الخلوي الطبيعي لجنين الجرذ (REF).

أظهرت النتائج وجود تأثير تثبيطي معنوي واضح للمستخلصات الخام في نمو الخلايا السرطانية لثلاث مدد من التعريض، ووجد أنَ التأثير التثبيطي للمستخلصات يعتمد على التركيز ومدة التعريض، في حين لم يكن هناك تأثير واضح وذو معنوية لنفس المستخلصات الخام في نمو الخلايا الطبيعية (REF).

وكان المستخلص المائي أكفأ المستخلصات الخام تأثيراً في الخط الخلوي السرطاني (HEP-2) أما في الخط الخلوي السرطاني (AMN-3) فقد كان مستخلص الايثانول هو الأكفأ ولم تكن هناك فروق معنوية واضحة عند المقارنة بين مستخلصات القلف ومستخلصات الأوراق.

من ناحية أخرى جرى أختبار الفعالية المثبطة للنمو لكل من مستخلصات قلف وأوراق نبات الصفصاف على الخلايا اللمفاوية الطبيعية للتراكيز السبعة نفسها من خلال حساب نسب معامل الانقسام الخيطي (Mitotic Index) ومعامل التحول الارومي (Blastotic Index) حيث أظهرت المستخلصات L1 , L2 , B1 , B2 تأثيراً لم يصل لدرجة المعنوية في معامل الانقسام الخيطي (MI) ومعامل التحول الارومي (BI) عند التراكيز الواطئة وأظهرت التراكيز العالية فرقاً

معنوياً عند المقارنة مع السيطرة. وأستخدمت التراكيز نفسها لمعرفة إمكانية عمل هذه المستخلصات بوصفها مواد مشطرة أو مواد موقفة للانقسام الخيطي ولم تظهر التجربة أية فروق معنوية في كلتا الحالتين.

دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات عين البزون *Vinca rosea* في نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية لبعض اللبائن خارج الجسم

لقاء حسون صكبان؛ هادي رسول حسن؛ ناهي يوسف ياسين

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.

دراسة تأثيرات مستخلصات أوراق الزيتون الخام المضادة للسرطان في الزجاج وفي الجسم الحي

حامد ناجي عبيد؛ جبار ياسر المياح؛ ناهي يوسف ياسين

يعتبر السرطان مشكلة صحية متنامية تأتي بعد امراض القلب والشرايين من حيث معدل الاضرار والوفيات مع اختلاف في التوزيع الجغرافي العالمي اعتمادا على نوع السرطان.

تمتاز العلاجات التقليدية بمحدوديتها كعلاجات مضادة للسرطان وذلك بسبب سميتها ومقاومة الخلايا السرطانية لها وإزدياد نسبة ارتجاع المرض. لهذا السبب فان البحوث العلمية جادة في إيجاد علاجات بديله مؤثره ومأمونه ورخيصة الكلفة.

تلعب النباتات دورا مهما في كونها مصدرا مهما لكثير من علاجات السرطان،لذلك فأن التقصّي عن نباتات أخرى قد يفضي الى إكتشاف دواء مفيدً مضاد للسرطان يخلو من المضاعفات الجانبية.

لهذا السبب صممت هذه الدراسة لتقيم تأثيرات مستخلصات اوراق الزيتون المائي (البارد والحار) والكحولي في الخطوط الخلوية السرطانية المنماة في الزجاج والجسم الحي وإن جميع التجارب المتعلقة بالبحث قد أنجزت في ألمركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية التابع للجامعة المستنصرية ما بين العامين 2005-2006.

تعلق الجانب المختبري من البحث بدراسة تأثير تلك المستخلصات في نسبة تثبيط نمو خلايا الخطوط السرطانية المزروعة في الزجاج (وهي خط سرطان الحنجرة البشري وخط سرطان الغدة اللبنية الفأري) بالمقارنه مع خط الخلايا الجنينية الليفيه الفأري (الطبيعي) المزروعة في أطباق المعايره الخاصة بالزراعة النسيجية وبمدد اختبار قدرها 24 ساغة، 48 ساعة و72 ساعة تحت ظرف التعقيم التام.

اختبرت تأثيرات ثمانية تراكيز ثنائية التخفيف في كل خط من الخطوط السرطانية أنفة الذكر، ابتدائاً من التركيز 5000 مايكروغرام\ملليلتر وإنتهاءً بالتركيز 39 مايكروغرام\ملليلتر بمعدل ثلاث مكررات لكل من التراكيز والفترات الزمنية المذكورة ،لمجاميع المعالجة والسيطرة.

وبعد انتهاء فترة تعريض الخطوط السرطانية لكل من المستخلصات المذكورة، يغسل طبق المعايرة (طبق الزرع النسيجي) ويصبغ بواسطة الصبغة البلورية البنفسجية وتقاس الكثافة الضوئية بواسطة مطياف أليزا عند 495 نانوميتر، وتمثل هذه القراءه الكثافة الضوئية للخلايا الحية النامية في قعر حفر طبق المعايرة.

أظهرت المستخلصات الثلاثة أنفة الذكر تأثيرات تثبيطية في النمو مرتبطة بمقدار تراكيزها ومدة تعريضها وإن اعلى تأثير لوحظ عند التراكيز العالية بعد مرور 48 ساعة و72 ساعة من التعريض.

اظهر المستخلص المائي البارد تأثيرا تثبيطيا في نمو خلايا خط سرطان الغدة اللبنية الفأري في جميع التراكيز وفترات التعريض. وأظهر تأثيراً تثبيطياً في خط سرطان الحنجره البشري عند

التراكيز والمدد العالية فقط ،ولم يكن له اي تأثير تثبيطي في خط الخلايا الليفيه لجنين الفأر لذلك فأنه لا يحدث اي تأثيرات سمية في الخلايا الطبيعية بالرغم من إمتلاكه تأثيرا تثبيطياً ضد الخلايا السرطانية. ويمتلك المستخلص المذكور التركيزالاقل اللازم لتثبيط نمو الخلايا بنسبة 50% لذلك فهو اكثر تأثيرا من بقية المستخلصات الاخرى.

اما المستخلصين المائي الحار والكحولي، فان تأثيرهما التثبيطي في الخطوط السرطانية كان أقل معنوية من تأثير المستخلص المائي البارد.

أما جزء الدراسةالمتعلق باختبار تأثير المستخلصات (في الجسم الحي) انفة الذكر في سرطان الغده اللبنية الفأري الناتج من زرع الخلايا السرطانية تحت الجلد وفي منطقة الكتف، فقد صممت التجربة باعطاء 30 ملغ/كغ من وزن الجسم من كل مستخلص تحت الجلد يوميا ولمدة ثلاثين يوما، وتقاس أبعاد الاورم كل ستة أيام وتحتسب أحجامها كمعيار للمقارنه بين مجاميع المعالجه ومجموعة السيطره.

أحدث المستخلص المائي البارد وبصورة معنوية تأخيراً في نمو الورم السرطاني عند جرعة قدرها 30ملغ/كغ من وزن الجسم، ولكن لم يوقف تقدم نمو الورم بالمقارنه مع المستخلص المائي الحار والمستخلص الكحولي حيث كان تأثيرهما أقل معنوية.

وبعد مرور ثلاثون يوما (فترة الاختبار) من ابتداء المعالجة، تمت التضحية بحيوانات مجموعة المعالجة بالمستخلص المائي البارد ومجموعة السيطرة ودرست الفروقات الامراضية قي المقاطع النسيجية لكل من الورم والرئة والكبد للمقارنة ما بين المجموعتين.

لوحظ انتشار واضح للخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية للاورام في مجموعة المعالجة في حين لم يلاحظ هذا الانتشار واضحا في المقاطع النسيجية لمجموعة السيطرة مما يؤكد بان للمستخلص المائي البارد تأثيرا تحفيزيا في الاستجابة المناعية الخلوية مقابل تأثيرات السرطان المنهكة باعتباره مرض مزمن.

لم تُظهر المقاطع النسيجية للرئة والكبد في حيوانات مجموعة المعالجة اي انبثات ثانوي للورم في حين سُجلت حالة انبثاث في رئة فأرة واحدة من أصل خمس حيوانات (20%) من مجموعة المعالجة، مما يدل على إمتلاك المستخلص المائي البارد تأثيراً مضادا لانتشار الورم مما يعتبر نتيجة علاجية مهمة.

ظاهرياً خلا السطح الخارجي للاورام في مجموعة المعالجة بالمستخلص المائي البارد من المضاعفات الثانوية المصاحبة لديناميكية الورم، في حين لوحظ احمرار وتقرح وموات في الانسجة السطحية للاورام في حيوانات مجموعة السيطرة كنتيجة لانتشار خلايا الورم موضعياً بعد ثلاثة اسابيع على بدأ التجربة.

أختبرت الجرعة السمية القاتلة لنصف حيوانات التجربة للمستخلص المائي البارد فلم تسجل اي أثار سمية أو حالة وفاة في مجموعة التجربة مضافاً لذلك لم يظهر إختبار تأثير مستخلصات أوراق الزيتون في خط خلايا الجنين الفأري أي تأثير سمي مما يدل على ان أوراق الزيتون تعد مصدراً دوائياً مؤموناً.

دراسة تأثير الخلاصة الكحولية لنبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في خلايا السرطانة الغدية الثديية المزروعة تجريبياً في الفئران

سحر ضاري توما؛ كامل فهد خزعل؛ شلال مراد حسين

هدفت الدراسة الى بيان تأثير الخلاصة الكحولية 70% لاوراق نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في خلايا سرطانة الغدية الثديية (AMN3) المزروعة تجريبياً في الفئران وكذلك دراسة التغيرات التشريحية المرضية النسيجية للكتلة السرطانية المعالجة واعضاء الفئران المصابة.

تضمنت التجربة تحضير الخلاصة الكحولية 70% لاوراق نبات سم الفراخ اذ بلغت نسبة الخلاصة 8.3% من 100 غم من اوراق النبات. وتم استخدام 50 فأرة، 40 فأرة منها زرعت بسرطانة الغدة الثديية، والعشرة فئران المتبقية تركت دون زرع (طبيعية). قسمت الفئران المغروسة بالسرطان الى اربعة مجاميع (10 في كل مجموعة)، مجموعتين منها عولجت بالخلاصة الكحولية للنبات، احدهما بطريقة الزرق داخل الصفاق (Peritonum) والاخرى بالتجريع الفموي بجرعة 500 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولمدة 30 يوما. اما المجموعتين المتبقيتين فاعطيت مادة بولي اثيلين كلايكول والتي تمثل المادة المذيبة للخلاصة النباتية، احدهما بطريقة الزرق داخل الصفاق والاخرى بالتجريع الفموي.

استخدم في التجربة معيارين لقياس حجم الورم والنسبة المئوية لتثبيط نمو الورم لتقييم فعالية الخلاصة النباتية. فقد اضهرت الدراسة تأثير فاعل للخلاصة في قتل الخلايا السرطانية وضمور حجم الورم للمجموعتين المعالجتين بالخلاصة النباتية بالمقارنة مع مجموعتي السيطرة الموجبة (المعالجة باستخدام المادة المذيبة)، بينما لم تظهر فروق معنوية بين طريقتي العلاج (الزرق داخل الصفاق والتجريع الفموي). كذلك اتضح وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في نسبة تثبيط نمو الورم لطريقتي العلاج للخلاصة الكحولية لاوراق النبات طيلة فترة التجربة، مع وجود تفاوت في نسبة الاستجابة الفردية لطريقتي العلاج بنسبة تتراوح بين 20-40%.

لوحظ وجود مناطق نخرية واسعة محاطة بنسيج ليفي وخلايا التهابية لكتلة النسيج السرطاني مع بعض التغيرات التنكيسية الطفيفة في خلايا الكبد متمثلة بوجود تفجي اصغري لهيولي الخلايا الكبدية، اضافة الى ذلك اضهرت المقاطع النسيجية احتقان في الاوردة المركزية، اما الكلى فقد اظهرت تغيرات تنكسية بسيطة في بطانة النبيبات الملففة الدانية متمثلة بتورم الخلايا الضهارية وتوسع حيز بومان، واظهر الطحال زيادة في الحجم (ضخامة الطحال) نتيجة لفرط تنسج اللب الابيض واحتقان الب الاحمر، اضافة الى وجود خلايا النواء اشارة الى تكون الدم النخاعي الخارجي.

نستنتج من الدراسة الحالية ان الخلاصة الكحولية 70% لاوراق نبات سم الفراخ تسبب في تثبيط نمو الخلايا السرطانية AMN3 المزروعة في الفئران التجريبية وذلك بسبب احتوائها على مواد قد تؤدي الى ايقاف انقسام الخلايا من خلال تأثيرها في تصنيع البروتين والاحماض النووية او قد يؤدي الخلاصة الى تحفيز الجهاز المناعي من خلال تأثيره في البلعميات واللمفاويات والانظيمات الحالة (Lysosomal enzyme).

دور المستخلص المائي للراوند *Rheum ribes* والزعتر *Thymus syriacus* في تثبيط التأثير التطفري للعقار Gemcitabine والتأثير التسرطني لمادة 7, 12-DMBA في ذكور الفئران البيض

كريم جلال كريم؛ بشرى محمد امين؛ ناهي يوسف ياسين

تضمنت الدراسة الحالية تسليط الضوء على التأثيرا المضادة لتطفير للعقار (gemcitabine) والتأثير المضاد للتسرطن المستحث لمادة 7, 12- Dimethl Benz[a] anthracene وكذلك تأثير بفعل المستخلصين المائيين لجذور الراوند *Rheum ribes* ولاوراق الزعتر البري *Thymus syriacus* في ذكور الفئران البيض. ولاجل الوصول الى هدف البحث صمم العمل وفقا للتجارب التالية:

اختبار القدرة التطفيرية لعقار(gemcitabine) (عقار مضاد للاورام) وللمستخلصان المائيان لجذور الراوند ولاوراق الزعتر في ذكور الفئران البيض والاعتماد على الاختبارات الوراثية الخلوية المتمثلة بالتغييرات الكروموسومية التركيبية والنويات الصغيرة ومعامل الانقسام الخلوي في نخاع عظم الأر فضلا عن اختبار تشوهات حيامن الذكور المعاملة.

الدور الوقائي المضاد لتطفير المستخلصين المائيين للنباتيين تجاه التأثيرات المطفرة للعقار (gemcitabine) وباستخدام ذات الاختبارات في الفقره اعلاه. وسجل اثر التداخل بين العقار والمستخلصين على شكل ثلاث معاملات قبل وبعد ومع استخدام المطفر وذلك للوصول الى التفسير المعقول للآلية التي يعمل من خلالها المستخلص النباتي.

التأثير المانع للتسرطن (chemoprevention) لكلا المستخلصين تجاه المسرطن 7, 12-DMBA والمحث للاورام الجلدية في ذكور الفئران باستخدام كل من النباتين (الراوند والزعتر) وبالتركيزين 1% و5% بالنسبة للراوند والتركيزين 5% و7.5% بالنسبة للزعتر عن طريق ماء الشرب على طول فترة التجربة البالغة 25 اسبوع.

الدور التثبيطي لكل من المستخلصين على الاورام الجلدية المتكونة نتيجة معاملة الفئران بالمسرطن 7, 12-DMBA.

اظهرت نتائج هذه الاختبار بان عقار (gemcitabine) ادى الى حدوث تغيرات كروموسومية تركيبية وزيادة في تكرار الحيوانات المنوية المشوهه بعد 35 يوما من المعاملة فضلاً عن تكوين خلايا ذات نوى صغيرة وثبيط معامل الانقسام (المايتوزي) لخلايا نخاع العظم للفئران المعامله.

ولم يكن لمستخلص جذور الراوند اي تأثير تطفيري معنوي في خلايا نخاع عظم الذكور المعاملة بهذا المستخلص وذلك عند اعطاءه عن طريق الفم، وعند التركيزين (100 و150 ملغم/كغم) من وزن جسم الفأر بينما التركيز (150 ملغم / كغم) حفز زيادة معنوية في تكرار الحيامن المشوهة. ووجد ايضاً ان مستخلص الزعتر البري لم يكن ذو تأثير تطفيري معنوي في خلايا نخاع العظم للفئران المعاملة عندما اعطي عن طريق الفم عدا التركيز (200 ملغم/ كغم) من وزن الجيم حيث اظهر المستخلص زيادة معنوية في المجموع الكلي لخلايا الطور الاستوائي الغير طبيعي (حاوية على تغيرات كروموسومية)، كما اظهر مستخلص الزعتر تأثيرا معنويا في العدد الكلى للحيامن المشوهة وتأثير غير معنوي على انواع التشوهات الاخرى المدروسة للحيامن.

هذا وقد بينت النتائج بان لكلا المستخلصين كفاءة تثبيطية عالية تجاة التأثير التطفيري للعقار (gemcitabine) وعند التركيز (15 ملغم/ كغم) من وزن الجسم لخلايا نخاع العظم وكذلك حيامن للفئران المعاملة بالمستخلص النباتي قبل وبعد ومع المعاملة بالمطفر وكان التركيز الامثل المستخدم للمستخالصين النباتيين هو (100 ملغم/ كغم) من وزن الجسم . ومن الجدير بالذكر ان مستخلص جذور الراوند كان ذو كفاءة تثبيطية عالية حينما اعطى مع العقار في آن واحد بينما وجد ان مستخلص اوراق الزعتر سجل اعلى كفاءة تثبيطية حينما اعطي قبل ومع المعاملة المطفرة.

من خلال معاملة الحيوانات الحاملة للاورام الجلدية التي تم استحثاثها بفعل المركب 7, 12-DMBA بكلا المستخلصين النباتيين الزعتر والري والراوند كلا على حدا وعند التراكيز اظهرت النتائج تأثير تثبيطي غير معنوي للاورام ولكلا المستخلصين النباتيين. وبلغت النسبة التثبيطية بمستخلص الراوند 33.5% اما مستخلص الزعتر البري فكان 38.1%.

ومن حهة اخرى وجد ان لكلا المستخلصين النباتيين قدرة تثبيطية معنوية في عدد الحيوانات الحاملة للاورام الجلدية (Papillomas) وكذلك عدد الاورام الجلدية في الحيوان الواحد عند معاملة هذة الحيوانات بمادة 7, 12-DMBA مع المستخلصين النباتيين على طول فترة التجربة التي امتدت نحو 25 اسبوعا واستخدم فيها مستخلص بذور الراوند بالتركيز 1% و5% ومستخلص اوراق الزعتر البري بالتركيزين 5% و7.5% في هذة التجربة.

اظهر الفحص النسيجي بين مستخلص الرواند والزعتر ادى الى اختزال الكتل الورمية الظهارية الناتجة بفعل المسرطن DMBA بالاخص في حالة استخدامهما كمانع للتسرطن وجدير بالذكر ان مستخلص الراوند ادى الى تكاثر جريبات الشعر.

وتشير هذه النتائج عموما الى امكانية استخدام نباتي الزعتر البري والراوند كمستخلصات مانعة للتطفير من نوع مضادات المطفرات (desmutagens) فضلاً عن امكانية استخدامهما كمستخلصات مانعة او مثبطة للتسرطن مما يسهل فرص لتطوير واكتشاف مواد مضادة للاورام مستقبلا.

دراسة التأثير المرضي والمناعي والوراثي الخلوي للمستخلص الخام لنبات القريص *Urtica dioica* للخلايا السرطانيه في الزجاج وفي علاج السرطان المغروس في الفئران البيضاء

ايمان هاشم يوسف؛ طالب عبد الامير مكاوي؛ ناهي يوسف ياسين

هدفت الدراسة التحري عن التأثير السمي للمستخلصين المائي والكحولي لنبات القريص *Urtica dioica* في الخلايا الطبيعية والسرطانية داخل وخارج الجسم الحي وبجوانب عدة.

لتحقيق هدف الدراسة تمّ أولاً تحضير مستخلصي النبات المائي والكحولي ومن ثم درست التأثيرات السمية للمستخلصين المحضرة والتي شملت محورين أساسين:

المحور الأول: تضمن دراسة التأثيرات السمية في الخلايا الطبيعية، وشمل بدوره جانبين:

أولاً- دراسة التأثير السمي للمستخلصين في الخلايا الطبيعية خارج الجسم الحي، من خلال التحري عن:

- التأثير السمي الوراثي الخلوي للمستخلص في الخلايا اللمفاوية المنقسمة، وتضمن (SCE, CCP, RI, CA, BI, MI).
- تأثير المستخلصين في معامل الانقسام النووي (NDI) ومعامل تكوين النواة الصغيرة (Mni) اضافة لتكوين الجسر النووي البروتوبلازمي (NPB) والبرعم النووي (Nuclear bud) في الخلايا اللمفاوية.

ومنها تم الحصول على النتائج الآتية:

- لاتمتلك المستخلصات المدروسة تأثيراً سمياً مطفراً في المادة الوراثية (DNA) للخلايا اللمفاوية المنقسمة للإنسان، إذ لم تسبب رفع النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية (CA) ولم تحصل زيادة في معدل التبادل الكروماتيدي الشقيق التلقائي (SCE) مقارنةً بمعاملة السيطرة السالبة ($P>0.05$).
- اعتمد تأثير المستخلصات في معامل الإنقسام الخيطي (MI) ومعامل التحول الأرومي (BI) ومعامل التضاعف (RI) ودورة توالي الخلية (CCP) و معامل الانقسام النووي (NDI) على التركيز المستخدم، فقد امتلكت التراكيز المرتفعة تأثيراً سمياً مثبطاً لتلك المعاملات، كان أشدها تأثيراً التركيز الاعلى، في حين رفعت التراكيز الواطئة للمستخلصين من كفاءة الخلايا في التحول والانقسام بوجود المادة المشطرة (PHA).

ثانياً- دراسة التأثير السمي للمستخلصين في الخلايا الطبيعية داخل الجسم الحي (باستخدام الفئران البيضاء)، من خلال:

- تحديد الجرعة المميتة الوسطية (LD_{50}) ودراسة التأثيرات المرضية الخارجية في الحيوان.
- التأثيرات السمية الوراثية الخلوية للمستخلصين في خلايا نخاع العظام والخلاياالمفاوية في الفئران.

- دراسة التأثيرات السمية المرضية النسيجية في أعضاء الحيوان المعامل (Stomach,Intestine,Lung ,Brain, Spleen, Kidney, Liver, ovary and heart).
- دراسة الاستجابه المناعيه لاحدى الجرع المنتخبه للعلاج من خلال الكشف عن القابليه البلعميه للبلعميات(Macrophages) مع الكشف عن العامل المثبط لهجرة البلعميات (Mif) وكذلك دراسة الاستجابه المناعيه الآنيه بواسطة اختبار الجلد.

ومنها تم التوصل إلى النتائج الآتية:

- يعد نبات القريص من النباتات السامه حيث ان قيمة الجرعة المميتة الوسطية(LD_{50}) لكلا المستخلصين المائي والكحولي بلغت (2. 225 g/kg) .
- تأثير المستخلصين على معاملات (RI, BI, MI وCCP) لخلايا نخاع عظام الفئران و(NDI,NDCI,Mni,NPB) في الخلايا اللمفاويه للفئران لم يختلف عما هو عليه في الخلايا اللمفاوية للإنسان خارج الجسم الحي، فقد اعتمدت التأثيرات بصورة أساس على الجرع المستخدمه، فالمرتفعة منها سببت انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) واضحاً في تلك المعاملات، في حين حفزت الجرع الواطئة من قدرة خلايا نخاع العظم والخلايا اللمفاويه على التحول والانقسام باستخدام المستخلصين للنبات.
- أكدت النتائج عدم امتلاك المستخلصين للنبات قيد الدراسة تأثيراً سمياً مطفراً في الخلايا اللمفاويه و خلايا نخاع عظام الفئران عدا ارتفاع في بعض القيم للنواة الصغيرة و تكوين الجسر البروتوبلازمي في الجرع العاليه مما يعزز النتائج نفسها التي تم الحصول عليها باستخدام الخلايا اللمفاوية البشرية كنظام اختباري خارج الجسم الحي.
- حفزت الجرعه المختاره للعلاج للمستخلصات المدروسة (0.01) ملغم/كغم فعالية الخلايا المناعية، فقد ازدادت كفاءة الخلايا البلعمية في التهام الخميرة المقتولة كما وحفزت من قدرتها على إنتاج العامل المثبط للهجرة (Mif) للخلاياالبلعميه اضافه الى تعزيز المناعه الخلويه من خلال اختبار الجلد للمناعه الخلويه الانيه (immediate type hypersensitivity) فضلاً عن تحفيز تحول وانقسام الخلايا اللمفاوية.
- بينت الدراسة النسيجية المرضية بأن الجرع الواطئه المدروسة للمستخلصين (0.01,0.1,1,50) ملغم/كغم لاتمتلك تأثيراً سمياً في كل من القلب والمعدة والامعاء والكبد والطحال والكليه والرئه والمبايض والدماغ (عند المعاملة بجرعة منخفضه وصل مقدارها (50) ملغم/كغم ولكل نوعٍ منها عدا ترسب مادة النشوان (amyloid) في الطحال عند الجرعه 0.1 ملغم/كغم)، لكن وجدت هناك تأثيرات مرضية في تلك الاعضاء باستخدام الجرع العاليه(100و150) ملغم/كغم ولكل نوعٍ منها) للاعضاء نفسها تمثلت بحصول فرط تنسج الطبقه المخاطيه للمعده والامعاء مع حصول ارتشاح للخلايا الالتهابيه (وحيدة النوى) في الطبقه تحت المخاطيه والتليف لتلك الطبقه عند الجرعه (150) ملغم/كغم ولكل نوعٍ منها)، وكذلك لوحظ التجمع البؤري للخلايا الالتهابيه (وحيدة النوى) في كل من الكبد والكليه مع توسع في الأنابيب البولية وبأعداد كبيرة مع تواجد القوالب البروتينية مما يشير لوجود قصور في عملية الترشيح الكبيبي، وكذلك شهد ضمور اللب

الابيض للطحال مع وجود خلايا النوى اضافة الى ان الرئه اظهرت تثخن في جدارها الحويصلي وذلك لفرط تنسج الخلايا الرئويه المبطنه للجدار نوع (ب) مع ارتشاح الخلايا الالتهابيه (وحيدة النوى) اما المبايض فقد اظهرت وجود جسيمات لوتينيه بكثرة مما يدل على وجود تأثير لهرمون الاندروجين (الايستروجين) وبالنسبه للدماغ فقد وجد هناك ارتشاح للخلايا الالتهابيه (glyosis) لم يظهر القلب اي تأثيرات مرضيه.

المحور الثاني: تضمن دراسة التأثيرات السمية في الخلايا السرطانية وشمل جانبين:

أولاً- دراسة التأثير السمي للنبات في خطوط الخلايا السرطانية (Brain, Ref, AMN-3, Hep-2).

- توصلت الدراسة إلى أن تأثير المستخلصين السمي للنبات يعتمد على نوع الخلايا ونوع المستخلص المستخدم، ومقدار الجرعة ووقت التعريض.
- وجد أن خلايا AMN-3 هي الأكثر حساسيةً من بين الأنواع الأخرى ثم تبعتها Hep-2 و Ref، في حين كانت خلايا Brain الأكثر مقاومةً.
- ثبطت التراكيز المرتفعة من نمو الخلايا السرطانية الأربعة وبالأخص التركيز (10000) مكغم/مل، في حين حفزت التراكيز الواطئة مابين (0.01، 0.1) مكغم/مل من تكاثر خلايا Hep-2 و Ref، في الوقت الذي سببت التراكيز نفسها تثبيط نمو خلايا AMN-3 وبالنسبه لخلاياBrain فقد اقتصر التاثير التثبيطي للتراكيز المرتفعة بعد (24) ساعه فقط من التعريض حيث استعادة الخلايا قدرتها على التكاثر بعد ذلك .
- لقد اجريت الدراسه الخلويه بشكل متزامن مع دراسة فعالية السميه الخلويه حيث لوحظ بأن التغيرات الخلويه اعتمدت على التركيز المستخدم ففي التراكيز الواطئه (0.01، 0.1) مكغم/مل ظهر تثبيط نمو شبيه بالرقع مع فقدان شكل الطبقه الاحاديه مع علامات التنكس الخلوي، وعند زيادة التركيز (10، 100) مكغم/مل ظهرت أولى علامات التحلل الخلوي الذي يكون اكثر شدة عند التعرض الى التراكيز العاليه (10000،1000) مكغم/مل وقد تمثلت هذة التغيرات بفقدان الحدود الخارجيه للخلايا ووجود اعداد متزايده من الخلايا الميته وملاحظة كميه كبيرة من الحطام الخلوي.
- اظهر اختباري فحص الالتصاق اللمفاوي و الالتصاق مع كريات الدم الحمراء وجود صفة الارتباط الكاربوهيدراتي للمستخلصين مع الخلايا السرطانيه حيث أدت الى زيادة ارتباط الخلايا السرطانيه مع الخلايا اللمفاويه وكريات الدم الحمراء في التركيزين (10،1000) مكغم/مل بالنسبه للمخلصين مع خطوط الخلاياء السرطانيه المعامله.

ثانياً- دراسة التأثير السمي للمستخلصين في سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران.

تمثل هذه الدراسة المحاوله الاولى لاستخدام مستخلصين لنبات القريص (المائي والكحولي) كمادة ضد السرطان بعد اعطاء جرع مختلفه من كلا المستخلصين لفئران تم غرسها بخلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري.

وجد أن النبات من خلال المستخلصين يمتلك تأثيراً مثبطاً لنمو خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AM_3) عند استعمال الجرع الواطئه عن طريق الفم،اما الجرع العاليه فإنها سببت أيضاً تأثيراً سمياً

في الحيوان مما حفز تلك الخلايا اي الخلايا السرطانية على التكاثر وحصول الانتشار الى نخاع العظم حيث تم الكشف عنه بواسطة الاختبار الوراثي الخلوي الذي اظهر وجود خلايا تحتوي على (69) كروموسوم وذلك عند المعامله بالجرعه (100) ملغم/كغم ولكلا المستخلصين وكذلك تم تشخيص الانتشار لهذه الخلايا في رئات الفئران المعامله بالجرعه نفسها بالنسبة للمستخلص المائي عن طريق الفحص النسجي المرضي وبالنسبة للجرعه العلاجيه المختاره (0.01) ملغم/كغم فقد اظهرت نسب تثبيط عاليه لنمو السرطان المغروس قبل العلاج لكلا المستخلصين حيث وصل الى (99.0، 99.4)% بينما ظهر بنسب تثبيط نمو أقل في حال أعطاه العلاج قبل الغرس (94.3، 94.4)% واعطت نسب تكاد تكون نفسها عند المعاملة في نفس وقت الغرس (98.2، 99.1)%. فضلاً عن ذلك أظهر الفحص النسيجي للأورام المعالجة وجود مناطق نخر كبيرة مع قلة عدد الخلايا السرطانية فضلاً عن ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية مع وجود طبقة سميكة من النسيج الليفي، بينما اظهرت مجموعة السيطرة السالبه والمعامله بالجرع السامه العاليه كتل صلبه من الخلايا السرطانيه المفرطة التكاثر والقليلة التمايز مع احتوائها على التنخر المركزي القليل المساحه بالمقارنه مع المعالج فضلاً عن احتوائه على القليل من الخلايا الالتهابيه.

دراسة تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى تمر الزهدي *Phoenix dactylifera* cultivar Zahdi في تثبيط نمو بعض خطوط الخلايا السرطانية في الزجاج وفي علاج سرطان الغدة اللبنية المغروس في الفئران البيض

ياسر حسين زيدان؛ بدري عويد العاني؛ ناهي يوسف ياسين

يمثل هذا البحث دراسة أولية لتقييم تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى نخيل التمر صنف الزهدي *Phoenix dactylifera* cultivar. Zahdi في اثنين من الخطوط الخلوية السرطانية، هما خط خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) وخط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN3)، وفي الخط الخلوي الطبيعي لجنين الجرذ (REF)، وتقييم تأثير هذه المستخلصات في مزارع خلايا الدم المحيطي البشري في الزجاج (*in vitro*) بوساطة حساب معامل التحول الأرومي Blast index (BI%) ومعامل الانقسام الخيطي Mitotic index (MI%)، ودراسة حالات الزيغ الكروموسومي Chromosomal aberration (CA) . وتضمنت دراسة الفعالية العلاجية لإثنين من المستخلصات المُحضرة من ثمار ونوى التمر في الفئران المختبرية الحاملة لسرطان الغدة اللبنية Mammary adenocarcinoma.

أعطى الاستخلاص المائي لثمار ونوى التمر إنتاجية بنسبة 24.33% ، 7.4% ، وبلغت إنتاجية الاستخلاص الإيثانولي لهما 14.2% ، 13.6% على الترتيب، أما عند الاستخلاص بالهكسان فقد

أعطت البذور زيتاً ذا لون أصفر مخضر وذا نكهة طيبة بنسبة 4.1 مل/100 غم من مسحوق النوى، ولم تُعطِ الثمار أي ناتج عندما إستُخلصَت بهذا المذيب.

وعند الكشف الإستدلالي عن المجاميع الكيميائية في هذه المستخلصات، تبيّن إحتواء المستخلصين المائيين لثمار ونوى التمر على التربينات، والدباغيات، والراتنجات، والفلافونويدات والكلايكوسيدات، فضلاً عن هذه المجاميع إحتوى المستخلصان الإيثانوليان على القلويدات، في حين أعطى المستخلص الهكساني لنوى التمر نتائج كشوفات موجبة مع التربينات والستيرويدات فقط .

كان التأثير السمّي للمستخلصات الخام لثمار ونوى التمر في كلا خطي الخلايا السرطانية Hep-2 و AMN3 في الزجاج (*in vitro*) معتمداً على التركيز المستخدم منها ومدة التعرض لها، وكان التأثير المعنوي الأعلى لتلك المستخلصات بعد 72 ساعة من تعريضها على الخلايا بالتركيز 10000 مايكروغرام/مل، فقد بلغت نسب التثبيط الأعلى في خلايا Hep-2 76.3%، 89.4% للمستخلصين المائي للثمار والإيثانولي للنوى، وكانت نسبة تثبيط هذين المستخلصين لخلايا AMN3 84.1 % ، 93.4 % على الترتيب. وقد أبدت المستخلصات الخام لثمار ونوى التمر تأثيرات تثبيطية طفيفة في خط الخلايا الطبيعية (REF)، فقد وصلت أعلى نسب تثبيط في هذه الخلايا 21.1% ، 17.7% عند التركيز 10000 مايكروغرام/مل للمستخلصين المائي للثمار والإيثانولي للنوى على الترتيب. وأوضحت قيم حيوية الخلايا Cell viability بشكل عام التأثير التثبيطي لحيوية الخلايا بشكل يعتمد على التركيز المستخدم من المستخلصات الخام ومدة التعرض لها، على الرغم من أن التراكيز الواطئة من المستخلص المائي للنوى قد أظهرت زيادة معنوية في حيوية خلايا Hep-2 عند مدتي التعريض 24 و 48 ساعة (Hormetic effect).

بيّنت دراسة تأثير المستخلصات الخام لثمار ونوى التمر في إنقسام الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي البشري إنخفاضاً معنوياً في معدلات معامل التحول الأرومي (BI%) ومعامل الإنقسام الخيطي (MI%) بشكل يعتمد على التركيز المستخدم من تلك المستخلصات، ولم تُحدث هذه المستخلصات أي تغيرات تركيبية أو عددية في كروموسومات تلك الخلايا. إن التراكيز المستعملة جميعها من المستخلصات الخام لثمار ونوى التمر لم تعمل كعوامل موقفة لإنقسام الخلايا اللمفاوية في الطور الإستوائي Metaphase عندما إستعملت بديلاً عن الكولسمايد Colcemid، فضلاً عن إنها لم تنجح بالعمل كعوامل مشطّرة بديلاً عن المادة المشطّرة Phytohemagglutinin (PHA).

تم تحديد الجرع العلاجية من المستخلصين المائي للثمار والإيثانولي للنوى إعتماداً على قيمة الجرعة المميتة النصفية (LD50). وأثبتت التجارب العلاجية فعالية عالية لهذين المستخلصين في إختزال حجم الورم بشكل يعتمد على الجرعة المستخدمة منها ومدة التجريع. وكانت الجرعة العلاجية الأعلى لكل من المستخلصين المائي للثمار والإيثانولي للنوى (1.2 ، 1 غم/كغم من وزن الفأرة على الترتيب) هي الأفضل تأثيراً من خلال إختزالها لحجم الورم في الفئران بنسبة 73.9% ، 83.8% على الترتيب. إن مقارنة حجم الورم النسبي لمختلف المجاميع العلاجية يوضح الفروق المعنوية الكبيرة بين هذه المجاميع ومجموعة السيطرة.

تشير نتائج هذه الدراسة إلى الفعالية السميّة العالية للمستخلصين المائي للثمار والإيثانولي للنوى في الخطوط الخلوية السرطانية Hep-2 و AMN3 بشكل متخصص Specifically دون إحداث

تأثير سمي في الخلايا الطبيعية المتمثلة بخلايا REF، والمدى الواسع لسلامة استخدام هذين المستخلصين في الفئران، والفعالية العالية ضد الورمية لهما عند استعمالهما في علاج سرطان الغدد اللبنية في الفئران.

تأثير المستخلص الكحولي لجذور نبات سم الفراخ *Withania somnifera Dun* في تثبيط نمو الخلايا السرطانية النامية في الزجاج واستخدامه في معالجة الأورام المغروسة في الفئران المختبرية

أزل حمودي جمعة؛ كامل فهد خزعل؛ شلال مراد حسين

استهدفت الدراسة إلى معرفة تأثير استخدام المستخلص الكحولي 70% لجذور نبات سم الفراخ *Withania somnifera* Dun وبتراكيز (3.6,7.25,15.5,31,62,125,125) مكغم/ملل في نمو خط خلايا سرطان الغدة اللبني ألفأري AMN3 في الزجاج مع دراسة تأثير المستخلص في الفئران المغروسة بسرطان الغدة اللبني ألفأري AM3 وموازنة مع الفعل التثبيطي الناتج من العلاج بكل من المستخلص مع العقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد وبنصف الجرعة العلاجية مع الفعل التثبيطي الناتج من استخدام العقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد فقط.

درست تأثير استخدام تراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي 70% لجذور نبات سم الفراخ في نمو خلايا سرطان الغدة اللبنية ألفأري AMN3 في الزجاج و أظهرت النتائج إن للمستخلص فعلاً مثبطاً لنمو تلك الخلايا وبخاصة في التركيز 31µg/ml وبمدة حضن (72,48,24) ساعة.

وتم دراسة السمية الحادة للمستخلص الكحولي لجذور نبات سم الفراخ وبجرع متدرجة (1000-5000 ملغم /كغم من وزن الجسم) وعن طريق التجريع الفموي إذ لم يظهر إي تأثير سام للمستخلص في كل جرعة ولغاية (5000 ملغم /كغم من وزن الجسم).

وتضمنت الدراسة معالجة الفئران المغروسة بسرطان الغدة اللبنية ألفأري AM3 بالمستخلص مع العقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد وقد استخدمت 35 فأرة مصابة تجريبياً بسرطان الغدة البنية ألفأري والتي قسمت إلى خمسة مجاميع متساوية تضمنت المجموعة الواحدة سبع فئران مصابة بسرطان الغدة اللبنية ألفأري AM3 حيث عولجت فئران المجموعة الأولى بالمستخلص الكحولي 70% لجذور نبات سم الفراخ وبجرعة 300 ملغم /كغم من وزن الجسم وعن طريق التجريع الفموي. أما المجموعة الثانية العلاجية فقد عولجت بالعقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد وبجرعة 3 ملغم /كغم من وزن الجسم وعن طريق الحقن داخل البريتون في حين عولجت فئران المجموعة الثالثة بكل من المستخلص مع جرعة 1.5 ملغم /كغم من وزن الجسم من العقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد أما مجموعتا السيطرة فقد تركت أحداهما من غير علاج والأخرى جرعت بالمذيب

العضوي (بولي اثيلين كلايكول -400) 30% . وتم معرفة التأثير التثبيطي للمستخلص في الأورام المغروسة في الفئران عن طريق قياس إحجام الأورام كل ثلاثة أيام خلال21 يوم (مدة التجربة) .

أظهرت نتائج الدراسة عند نهاية مدة التجربة إن للمستخلص الكحولي 70% لجذور نبات سم الفراخ فعلاً تثبيطياً لنمو الخلايا السرطانية مع ضمور حجم الورم كلما تقدمت المدة الزمنية للعلاج فقد وجد إن هناك فروقاً معنوية ($p< 0.001$) في ضمور حجم الورم للمجموعتين العلاجية الأولى والثانية موازنة مع إحجام أورام مجموعة السيطرة الموجبة (المجموعة الرابعة)، وبفرق معنوي ($p<0.01$) في ضمور حجم الورم للمجموعة العلاجية الثانية موازنة مع إحجام أورام مجموعة السيطرة الموجبة (المجموعة الخامسة)، وكذالك وجود فروق معنوية ($p<0.05$) في نسبة تثبيط نمو الورم بين المجموعة العلاجية الأولى والثالثة موازنة مع المجموعة الثانية.

وأظهرت النتائج أيضا إطالة عمر الفئران المعالجة في المجموعة الأولى والثالثة وبنسبة بقاء على قيد الحياة بلغت 100% وعند اليوم 60 بعد البدء بالعلاج إما فئران المجموعة الثانية والمعالجة بالعقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد فأن نسبة بقاء فئرانها على قيد الحياة بلغت 60% وعند اليوم 60 بعد البدء بالعلاج.

وقد أظهرت نتائج الفحص النسيجي وجود مناطق تنخرية واسعة محاطة بنسيج ليفي مع خلايا التهابية لكتلة النسيج السرطاني لأورام فئران المجموعتين العلاجية الأولى والثالثة في حين كانت مناطق تنخرية اقل في أورام فئران المجموعة العلاجية الثانية وقد وجد بعض التغيرات التنكسية الطفيفة في كل من الكبد والكلى إما مقاطع الطحال في المجموعة العلاجية الأولى والثالثة اظهر فرط في تنسج اللب الأبيض مع ارتشاح لخلايا النواء وكبر حجمة في حين أظهرت المقاطع النسيجية للطحال في فئران المجموعة الثانية العلاجية ضموراً في اللب الأبيض (جسيمات مالبيجي) مع وجود خلايا النواء (Megakaryocyte).

أستنتج من الدراسة الحالية إن مستخلص جذور نبات سم الفراخ يعتبر من النباتات ذات الدور الواعد في علاج السرطان حيث سبب مستخلص الجذور تثبيط معنوي في حجم أورام الغدة اللبنية ألفأري المغروسة في الفئران المختبرية أكثر من القدرة التثبيطية للعقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد ،وأظهرت النتائج إن القدرة التثبيطية الناتجة من استخدام المستخلص مع نصف جرعة من العقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد فعلا تثبيطياً اعلى من استخدام العقار الكيماوي السايكلوفوسفمايد منفرداً وهي نتائج مشجعة حول إمكانية استخدام المستخلص مع أنواع أخرى من العلاجات المضادة للسرطان خصوصاً وأن المستخلص لا يمتلك تأثير سام عند إعطاءه كعلاج عن طريق الفم وهذا ما أظهرت نتائج دراسة السمية الحادة في الفئران المختبرية.

دراسة تأثير المستخلصات الخام لنبات السبحبح *Melia azedarach* على خطوط الخلايا السرطانية و الطبيعية في المختبر

رغد هيثم طه؛ نبيل العاني؛ ناهي يوسف ياسين

يعد هذا البحث دراسة استكشافية لفعالية مركبات الايض الثانوي لشجرة السبحبح داخل وخارج الجسم الحي، ودراسة تاثيرها بشكلها الخام على نمو الخلايا السرطانية (خارج الجسم الحي)، فضلاً عن دراسة تأثير تلك المركبات على نمو الخلايا اللمفاوية البشرية. تضمنت الدراسة مايأتي:

أولاً: تمت عملية التعقيم للاجزاء النباتية باستخدام ثلاثة أنواع من المحاليل المعقمة. ألاول هو هايبوكلورات الصوديوم، حيث وجد أن افضل تركيزكان 1 % لمدة دقيقة ونصف. والثاني كلوريد الزئبق بتركيز هو 0.05% لمدة نصف دقيقة. أما المحلول الثالث كان الكحول الاثيلي بتركيز 2.5% لمدة نصف دقيقة.

ثانياً: استحث الكالس من أجزاء القمم النامية وأديم على وسط MS المجهز 1.5 ملغم/لتر من الكاينيتين و 2.5 ملغم/لتر من 2,4–D. ولوحظ ان انتاج الكالس في الظلام هو الاعلى.

ثالثاً: كشف عن مركبات الايض الثانوي لمستخلص للقمم النامية الماخوذة من نبات السبحبح ومستخلص الكالس باستخدام الكواشف التمهيدية.

رابعاً: تم تحضير مستخلصين خام لنبات السبحبح والكالس باستعمال نوعين من المذيبات (ن- الهكسان و الماء المقطر)، وقد تباينت نسب ونوعية المستخلصات بين مذيب وآخر اعتماداً على نوع المذيب وقطبيته، فضلاً عن نوع المركب الفعال المذاب.

خامساً: اختبرت الفعالية السُمية للمستخلصات الخام لنبات السبحبح في خطوط الخلايا السرطانية، (Hep-2 and AMN-3) والخلايا الطبيعية (REF) بستة تراكيز زوجية وستة تراكيز عشرية (156.25, 78.1, 39, 19.5, 9.7, 4.8)، وضمن مدد تعريض مختلفة 24 ، 48 ، 72 ساعة (10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6},10^{-7}, 10^{-8} µg/ml) ولخط الخلايا الطبيعي لمدة 72 ساعة وكانت النتيجة وجود تأثير سُمي واضح، وبمعنوية عالية $P<0.03$ لتلك المستخلصات الخام في نمو الخلايا السرطانية، وخلال المدد الثلاثة من التعريض، وإن شدة السُمية تزداد بزيادة مدة التعريض والتركيز، في حين لم يكن هنالك تأثير واضح وذو معنوية لنفس المستخلصات الخام في نمو الخلايا الطبيعية لذا قد يكون للمركبات الايضية لنبات السبحبح بعض التخصص في التأثير السُمي في نمو الخلايا السرطانية دون الطبيعية. وكان المستخلص الكالس الهكساني أكفأ المستخلصات الخام سُميةً في الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) بتركيز9.7 و10^{-6} مايكروغرام/مليلتر. وكان الخط السرطاني (Hep-2) أكثر حساسيةً للمستخلصات الخام، في حين كان الخط الخلوي السرطاني (AMN-3) اقل الخطوط الخلوية السرطانية حساسية للمستخلصات الخام.

سادساً: دراسة التأثير المناعي للمستخلصات الخام لنبات السبحبح في انقسام الخلايا اللمفاوية البشرية قبل وبعد إضافة العامل المشطر (PHA) ضمن مدة تعريض 72ساعة. وجد قبل إضافة الـ(PHA) انخفضت تلك الأعداد لجميع المستخلصات الخام. وهذا يدل على أن لتلك المستخلصات الخام ليس لها تأثيراً معدلاً مناعياً (Immunomodulatory effect). أما بعد إضافة الـ(PHA)، فكان هنالك تأثيراً معدلاً مناعياً أيضاً وبشكل تآزري (Synergistic effect) بين المستخلصات الخام والمادة المشطرة (PHA) بحيث أدى إلى زيادة قابلية التعديل المناعي للمستخلصات الخام، أي إن تأثير المستخلصات الخام لنبات السبحبح بوجود العامل المشطر كان أكفأ من تأثير المستخلصات لوحدها. ودرست ايضا التأثير المناعي لتلك المستخلصات في الخلايا المناعية قبل وبعد اضافة الكولجسين، ووجد أن المستخلصات الخام لنبات السبحبح لا تمتلك القابلية لأيقاف للانقسام.

التأثيرات السمية الخلوية والوراثية لمستخلصات نبات *Capparis spinosa L.* الخام على الخطوط الخلوية السرطانية في الزجاج والحي

اسعد عبد الواحد بدر الاسدي؛ ناهي يوسف ياسين

اجريت الدراسة الحالية لغرض تقييم الفعالية السمية الخلوية للمستخلصات المائي والميثانولي والهكسيني لكل من الجذور والأوراق والبراعم الزهرية لنبات *Capparis spinosa* (الشفلح) ضد ثلاث انواع من خطوط الخلايا، خط سرطان ظهارة الغدة اللبنية الفأري murine mammary adenocarcinoma (AMN3)، وخط سرطان ظهارة الحنجرة البشرى Hep-2 والخط الطبيعي لخلايا الجرذ الجنينية مولدة الألياف REF3.

كما تم تقييم تاثير نفس المستخلصات على بعض المعاير الوراثية الخلوية المتمثلة بمعامل الأنقسام mitotic index(M.I) والتغيرات الصبغية بدلالة نسبة (الخلاية المحطمة) تعد هده الدراسة محاولة لأستخدام المستخلص المائي والميثانولي لجذور نبات الشفلح كمادة ضد سرطان ظهارة الغدة اللبنية الفأري فى الحى *in vivo* بعد معاملة اناث الفار المختبري *Mus musculus* من الضرب Balb/c بالمستخلصات وبثلاث طرق مختلفة (بعد، فى نفس الوقت وقبل) حقن خلايا ظهارة الغدة اللبنية الفأري تحت الجلد وتمت متابعة وتقيم تاثير هذين المستخلصين على وزن الحيوانات المعاملة وبعض اعضائها مثل الكبد والكلية كذلك تمت دراسة المعايير الوراثية الخلوية كمعامل الأنقسام الخلوي ومعامل النضوج الخلوى blast index (B.I) والتغيرات الصبغية بدلالة نسبة (الخلاية المحطمة)، شملت الدراسة الحالية اختبار فاعلية التطفير للمستخلصين المائي والميثانولي فى ذكور الفأر المختبري بدلالة التغيرات فى رؤوس الحيامن.

كانت الخطوة الأولى فى اختبار الجرعة العلاجية التى استخدمت فى المعاملات هى تحديد الجرعة المميتة الوسطية للفئران ولكلا المستخلصين المائي والميثانولي حيث كانت تساوى

(4.0007 و 6.6005 غم/كغم من وزن الجسم) على التوالى، لذا كانت الجرع العلاجية للمستخلص المائي (0.4 و 0.2 و 0.1 غم/كغم من وزن الجسم) بينما (0.66 و0.33 و0.165 غم/كغم من وزن الجسم) للمستخلص الميثانولى وقد اعطيت تحت الجلد.

لقد اظهر التحليل الأحصائي لتقييم الفعالية السمية فى الزجاج وجود تاثير تثبيطي مهم احصائياً لمستخلص الجذور المائى على نمو خلايا ظهارة الغدة اللبنية الفأري اعلى من التاثير الذى اظهره كل من المستخلصين الميثانولي و الهكسيني للجذور وكان هذا التاثير يزداد بزيادة التركيز ولكنه غير متاثر بفترة المعاملة.

كانت تراكيز المستخلصات المائي، الميثانولي، الهكسيني القاتلة الى نصف العدد الكلي (CC50) لخلايا ظهارة الغدة اللبنية هى (546.887 و 1250 و 10000 < ميكروغرام/مل) على التوالى خلال مدة تعرض 48 ساعة. اظهر المستخلص المائي للجذور اثر تثبيطي عالى على خلايا Hep-2، بينما سجل المستخلصين الميثانولي والهكسيني اثر اقل على هذة الخلايا.

كانت تراكيز المستخلصات المائي، الميثانولي، الهكسيني القاتلة الى نصف العدد الكلي لخلايا سرطان ظهارة الحنجرة البشري هى 2500 ميكروغرام\مل للمستخلص المائى و 10000 < ميكروغرام/مل لكل من المستخلصين الميثانولى والهكسيني خلال مدة تعرض 72 ساعة. كان للمستخلص المائي للجذور فاعلية عالية لتثبيط الخط الخلوي السرطاني AMN3 عند المقارنة مع الخط الخلوي السرطاني Hep-2 .

اظهرت خلايا REF3 مقاومة لتاثير كل المستخلصات المائي، الميثانولي، الهكسيني للجذور ولكل فترات المعاملة. لم يسجل اى تاثير تثبيطي بعد تعرض خلايا AMN3 و REF3 للمستخلصات المائي، الميثانولي والهكسيني للأوراق ولكل الفترات، بينما اظهر المستخلص المائي للأوراق تاثيراً تثبيطياً على خلايا Hep-2 بعد 72 ساعة من المعاملة فقط وكان التركيز القاتل لنصف العدد الكلي 6666.67 ميكروغرام/مل.

ابدت الخطوط الخلوية الثلاث Hep-2، AMN3 و REF3 مقاومة واضحة لكل انواع مستخلصات البراعم الزهرية. لقد اظهرت الدراسة الوراثية الخلوية ان المستخلصين المائي والميثانولي للجذور يمتلكان الفاعلية المضادة للأنقسام الخلوي، فقد تسببا فى نقصان مهم احصائيا فى معامل انقسام الخلايا دون الخلايا الطبيعية وكان هذا التاثير فقط عند التعرض الى التراكيز العالية، اما التغيرات الصبغية العددية والتركيبية فقد اظهرت بشكل واضح فى خلايا AMN3 المعاملة وغير المعاملة فكانت التغيرات العددية تتضمن (eneuploidy, tetraploid, octoploid)، بينما التركيبة تضمنت (dicentric ,one gap and one triradial, ring-chromosome, chromosome break with fragment chromosome).

فيما يتعلق فى خلايا REF3 كانت فقط التغيرات التركيبية هى الظاهرة دون العددية وبنسب غير مهمة احصائياً، وتضمنت chromatid break, ring chromosome, dicentric chromosome عند المعاملة مع المستخلص الميثانولى

للجذور، بينما اظهرت معاملات المستخلص المائى التغيرات الصبغية نفسها باستثناء غياب C.B مع وجود حالات قليلة من symmetric interchange of chromosomes of equal length.

لقد اظهرت نتائج البرنامج العلاجي فى الحي ان للمستخلص المائي للجذور وبالتركيز 0.4 غم/كغم من وزن الجسم يمتلك اعلى قابلية لتقليل حجم الورم معتمداًً على مدة العلاج وطريقة اعطاءه حيث كانت اكثر الطرق كفائتا عندما يكون العلاج فى نفس وقت حقن الخلايا السرطانية، بينما يمتلك المستخلص الميثانولي وبالتركيز 0.66 غم/كغم من وزن الجسم اعلى قابلية لتقليل حجم الورم معتمدا ايضا على مدة العلاج وطريقة اعطاءه، حيث كانت اكفاء الطرق عندما يكون العلاج فى نفس وقت حقن الخلايا السرطانية اولاً ومن ثم عندما يكون العلاج قبل حقن الخلايا السرطانية بخمسة عشر يوماً.

اوضحت النتائج عدم تاثر وزن الحيوانات التى ابدت استجابة معنوية للعلاج، فقد اظهرت الحيوانات انفة الذكر وزنا مستقرا حتى انتهاء التجربة، باستثناء الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي للجذور وبالتركيز 0.4غم/كغم من وزن الجسم حيث اظهر زيادة وزنية واضحة فى نهاية التجربة.

دراسة الكتل الورمية المعزولة من الحيوانات المعاملة بالمسستخلصات المختبرة فى الدراسة الحالية، اظهرت فاعلية المستخلص المائي للجذور وبالتركيز 0.4 غم/كغم من وزن الجسم عندما تكون المعاملة في نفس وقت حقن الخلايا السرطاني، كانت هذة الفاعلية ظاهرة بشكل تنخر وتليف مع ظهور بعض الدلائل للتحفيز المناعي وخاصة فى الحيوانات التى ابدت استجابة علاجية عالية.

الدراسة الوراثية الخلوية لخلايا نقى العظم فى الفئران المختبرية فى الحي اظهرت ان المستخلص المائي للجذور وبالتركيزين 0.4 و 0.2 غم/كغم من وزن الجسم وكذلك المستخلص الميثانولي بالتركيز 0.66 غم/كغم من وزن يمتلكان فاعلية مضادة للأنقسام، فقد تسببا بنقصان مهم فى معامل الأنقسام الخلوي والنضج الخلوى، كما تسبب المستخلص المائى بزيادة طفيفة فى التغيرات الصبغية التركيبية خلافا للمستخلص الميثانولي الذى لم يبدى اى تاثير ملحوظ. اثبتت النتائج ان كل من المستخلصين المائي والميثانولي للجذور ليس لهما اى تاثير مطفر باستخدام فحص رؤوس الحيامن المشوهة.

تأثير المستخلصات الكحولية الخام لبذور واوراق نبات الكرفس *Apium graveolens* في سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في اناث الفئران البيض

مروة عامر حسين؛ رسمية حياوي مراد؛ شلال مراد حسين

استهدفت الدراسة الحالية دراسة تأثير جرعات مختلفة لاثنين من المستخلصات الكحولية الخام 95% المحضرة من بذور واوراق الكرفس Apium graveolens var. dulce في اناث الفئران البيض Balbc\c المختبرية الحامة لسرطانة الغدة اللبنية Mammary adenocarcinoma.

اعطى الاستخلاص الايثانولي لبذور واوراق الكرفس نسبة انتاجية 9.9%، 13.3% على التوالي، بينما بلغت انتاجية الاستخلاص الميثانولي لهما 10.3%، 16.9% على التوالي، واعطت البذور مستخلصا زيتيا ذا لون بني مائل للاصفرار وقوام لزج ذو نكهة طيبة، بينما اعطت الاوراق مستخلصا زيتيا ذو لون اخضر داكن مائل للسواد وقوام لزج ذو نكهة طيبة ايضاً.

وعند الكشف الاستدلالي عن المجاميع الكيميائية في هذة المستخلصات، تبين احتواء المستخلص الايثانولي لبذور الكرفس على التانينات والفلافونويدات والفينولات والكلايكوسيدات فقط، فضلاً عن هذه المجاميع فقد تم احتواء المستخلص الميثانولي للبذور على الصابونينات والراتنجات والقلويدات والتربينات والكيومارينات، في حين اعطى المستخلص الميثانولي لاوراق الكرفس نتائج موجبة لجميع الكشوفات بينما اعطى المستخلص الميثانولي لاوراق الكرفس نتائج موجبة للكشوفات ماعدا الصابونين.

تم الكشف عن مكونات الزيوت الاساسية الطيارة Aromatic essential oils والثابتة Fixed essential oils بطريقة كروموتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC (Liquid Chromotography High-Performance)، حث تبين وجود 14 مركبا من الزيوت الطيارة في بذور نبات الكرفس بالقياس مع مركبات الزيوت الطيارة القياسية المستخدمة في جهاز HPLC وهي (a-pinene, Cineole, P-cymeme, Terpinene, a- phellandrene, B-pinene, Geraneole, terpinole, Linalool, Menthone, Limonene, Myrcene, Camphen, Rutin) وقد كان مركب الـ a- pinene اعلاها تركيزا اذ بلغ تركيزه (19.2 مايكروغرام/ مل)، واقلها تركيزا كان مركب الـ Camphen اذ بلغ تركيزه (6.3 مايكروغرام/ مل).

اما عند الكشف عن الزيوت الطياره لاوراق الكرفس فقد اظهرت النتائج وجود 23 مركبا للزيوت الطيارة لاوراق نبات الكرفس (Sabinene, a-Tujene, a-pinene, Sabinene, B pinine, Mircene, p-cymene, Limonene, cis-ocimene, trans-ocimene, G-Terpinene, linalool, cis-limonene oxide, trans-ilimonene oxide, transcarveol,

trans-carvylacetate, B-caryophyllene, B-Selinene, a-Selinene, caryophyllene oxide, 3-n-butylphthalide, Sedanolide, cis-sedanolide, trans-sedanolide) وكان مركب الـ cis-sedanolide أعلاها تركيزا، اذ بلغ (45.41 مايكروغرام/ مل) واقلها تركيزا كان مركب الـ G-Terpinene اذ بلغ تركيزه (26.00 مايكروغرام/ مل).

تم تحديد الجرع المؤثرة من المستخصات الكحولية الخام لنبات الكرفس وهي (الايثانولي، الميثانولي والايثانولي الميثانولي الخام) للبذور والاوراق اعتمادا على تأثيرتها النسيجية والفسيولوجية والعلاجية. فقد اثبتت التجارب العلاجية فعالية عالية لهذة المستخلصات الثلاثة في اختزال حجم الورم اعتمادا على الجرع المستخدمة منها ومدة التجريع ونوع المستخلص والجزء النباتي المستخدم. وكانت الجرعة العلاجية الوسطية 500 ملغم/ كغم هي الافضل تأثيرا من خلال اختزالها لحجوم الاورام في الفئران المجرعة بالمستخلصات الكحولية الخام لاوراق نبات الكرفس لمدة ثلاثين يوما، كما وضحت النتائج وجود فروق معنوية كبيرة عند مقارنة حجم الورم النسبي بين مختلف المجاميع العلاجية ومجموعة السيطرة فقد اثبتت المستخلصات الكحولية الخام لاوراق نبات الكرفس فعالية ضد السرطانية اكثر كفاءة من المستخلصات الكحولية الخام لبذور نبات الكرفس، وكان المستخلص الميثانولي الخام للبذور والاوراق اكثر كفاءة من المستخلصين الايثانولي والايثانولي الميثانولي الخام على انفراد. وقد اظهرت المجاميع الفأرية المعالجة بالمستخلصات الكحولية الخام لبذور واوراق الكرفس إطالة واضحة في البقاء على قيد الحياة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة.

كما اظهرت نتائج الدراسة ايضا انخفاضا معنويا ($p> 0.05$) في اوزان الحيوانات المستعملة في التجارب المجرعة بالمستخلصات النباتية (الايثانولي، الميثانولي والايثانولي الميثانولي) الخام وبجرعها المتسلسلة عن طريق الفم لمدة 30 يوما.

وبين الفحص المجهري لسرطانة الغدة اللبنية المغروسة في اناث الفئران البيض التي عولجت بالمستخلصات الكحولية الخام لنبات الكرفس (للبذور والاوراق) وجود بؤر متعددة من تنخر الخلايا الورمية التي تميزت بفقدان الصبغة المميزة لها واختفاء انويتها وتحطمها ذاتيا حيث كان ظهور الموت المبرمج واضحا جدا بأعداد كبيرة، فضلا عن ارتشاح الخلايا الالتهابية (العدلات) في المنطقة المتنخرة وبين بؤر الخلايا السرطانية الصغيرة التي تعاني من التنكس في المرحلة الاولي، كما شوهد انعزال للخلايا الورمية السليمة على شكل بؤر صغيرة منتشرة ومحاطة بمحفظة نسيجية سميكة ومرتشحة بالخلايا وحيدة النواة والخلايا الالتهابية وخاصة الخلايا البلعمية والخلايا اللمفية كذلك لوحظ وجود نزف دموي من الاوعية الدموية المحتقنة، بينما اوضح الفحص المجهري لسرطانة الغدة اللبنية المغروسة في اناث الفئران البيض لمجموعة السيطرة(غير المعالجة) وجود عدد كبير من الخلايا السرطانية الخبيثة بأنويتها ذات الاشكال الانشطارية الخيطية المختلفة. فضلا عن ذلك اظهرت نتائج الدراسة ان استخدام المستخلصات النباتية كان امينا من خلال اعطائه عن طريق الفم حيث لم تظهر علامات سريرية دالة على وجود تأثيرات سامة للمستخلصات الكحولية الخام لبذور واوراق نبات الكرفس عندما اعطيت جرعات متدرجة (250-6000 ملغم/كغم) من وزن الجسم عن طريق الفم لذلك يعد من النباتات الامينة.

واظهر التحديد الكمي Quantitative determination لهرمون الاستروجين E2 والبروجسترون P4 والهرمون المحفز للجريبات FSH في مصول فئران التجارب العلاجية المعاملة بالمستخلصات الكحولية الخام 95% لاوراق نبات الكرفس وبذوره، اذ اظهرت نتائج الدراسة ارتفاعا معنويا في تركيز هرمون الاستروجين بالنسبة لانواع المستخلصات قياسا مع قيم معامل السيطرة حيث سجلت الدراسة ارتفاعا معنويا بتركيز هرمون الاستروجين في الفئران المجرعة بالمستخلصات النباتية حيث بلغ ذروته في المستخلص الميثانولي 95% تلاها في المستخلص الايثانولي 95%، ثم في المستخلص الايثانولي الميثانولي الخام لبذور الكرفس، بينما كانت الزيادة بتركيز هرمون الاستروجين بالنسبة للمستخلصات الكحولية الخام لاوراق الكرفس في المستخلص الايثانولي 95% اولا، يليه في المستخلص الميثانولي 95% ثم يلية في المستخلص الايثانولي الميثانولي الخام لاوراق الكرفس عند مقارنتها بمعامل مجموعة السيطرة.

كما احدثت المستخلصات النباتية ارتفاعا معنويا في تركيز هرمون البروجسترون قياسا مع قيم معامل السيطرة، اذ سجلت الاحصائيات ارتفاعا معنويا بتركيز الهرمون في الفئران المجرعة بالمستخلص الميثانولي 95%، يليه في المستخلص اللايثانولي 95% ثم في المستخلص الايثانولي الميثانولي الخام لبذور الكرفس. بينما سجلت الدراسة وجود ارتفاعا معنويا بتركيز هرمون البروجسترون في المستخلص الايثانولي 95% تلاها في المستخلص الميثانولي الخام 95% ثم في المستخلص الايثانولي الميثانولي الخام لاوراق الكرفس عند مقارنتها بمعامل مجموعة السيطرة.

اثبتت الدراسة وجود ارتفاعا معنويا في تركيز الهرمون المحفز للجريبات في الفئران المجرعة بالمستخاصات النباتية حيث بلغ ذروته في الايثانولي الميثانولي الخام، يليه في المستخلص الميثانولي الخام 95% لبذور الكرفس، ثم في المستخلص الميثانولي الخام 95% لاوراق الكرفس عند مقارنتها مع قيم معامل السيطرة، بينما سجلت النتائج انخفاضا معنويا في مستوى الهرمون المحفز للجريبات في المستخلص الايثانولي الخام لبذور الكرفس واوراقه، يلية في المستخلص الايثانولي الميثانولي الخام لاوراق نبات الكرفس عند مقارنتها مع قيم معامل السيطرة.

التأثيرات السمية الخلوية والوراثية لمستخلص جذور نبات الرايوس المحلي *Rheum ribes* L. على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية

هاژه جمال هدايت؛ ناظم جلال اسماعيل؛ ناهي يوسف ياسين

يمثل هذا البحث دراسة اولية لمعرفة تأثيرات اثنين من المستخلصات الخام لنبات الرايوس *Rheum ribes* L. على اثنتان من الخطوط الخلوية السرطانية وخط ثالث لخلايا طبيعية.

تم تحضير المستخلص المائي والمستخلص الايثانولي من الجذور المجففة لنبات الرايوس *Rheum ribes* L. وبلغت نسبة الحاصل الناتج من المستخلصين المائي والكحولي (5.5 غم)(6 غم) على التوالي.

شملت الخطوط الخلوية المدروسة خط خلايا سرطان الحنجرة البشرية (Hep-2) وخط خلايا سرطان الثدي الفأري (AMN3) وخط خلايا جنينية مولدة للالياف طبيعية (REF3) في الجرذان.وظهرت لكل من المستخلصين المائي والكحولي تأثيرات مثبطة ومعتمدة على مدى التعريض والتراكيز. حيث كان خط خلايا سرطان الحنجرة (Hep-2) اكثر الخطوط تأثرا بالمستخلصين المائي والكحولي اذ بدأت الفعالية السمية للمستخلص المائي بعد 24 ساعة من التعريض وظهرت الفعالية السمية في جميع التراكيز بعد 72 ساعة من التعريض لكلا المستخلصين المائي والكحولي. فيما اظهرت الخلايا REF3 وAMN3 مقاومة لتأثير المستخلصين، اذ لم تتأثر الا بالتراكيز العالية لكلا المستخلصين وذلك في اليوم الاخير من زمن التجربة.

كان الهدف من هذا البحث ايضاً هو دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير للمستخلص المائي وباستخدام الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي في الانسان والذي اعتمدت على الاختبارات والتحليلات الوراثية الخلوية (معامل الانقسام الخلوي والتغيرات الكروموسومية). درس التداخل بين التراكيز الثلاث الامثل للمستخلص (قبل، بعد ومع المطفر) وذلك الاختبار فعالية هذا المستخلص في منع او تحوير او تقليا فعل المطفر. لقد توصلت الدراسة الى النتائج التالية:

1. عدم وجود تأثير سام او مطفر للمستخلص المائي لنبات الرايوس على الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي في الانسان.
2. وجود كفاءة تثبيطية لهذا المستخلص تجاه التأثير التثبيطي للمطفر MMC، حيث ادى الى انخفاض معنوي في نسبة التغيرات الكروموسومية وزيادة عدد الخلايا المنقسمة.

دراسة وراثية خلوية لتأثير المستخلصات الخام لبذور الكتان في بعض الخطوط الخلوية السرطانية

أشرف نزار سعد؛ عبد الزهرة كاظم محمد؛ ناهي يوسف ياسين

مع استمرار البحث عن علاجات جديدة لمرض السرطان تبرز اهمية المستخاصات النباتية التي تقضي على الخلايا السرطانية، بوصفها علاجات محتملة للتخلص من تأثير تلك الخلايا الخبيثة، ويعد هذا البحث دراسة اولية استكشافية، تهدف الى تسليط الضوء على تأثير المستخلصات الخام لبذور الكتان في بعض الخطوط الخلوية السرطانية خارج الجسم الحي، فضلا عن تأثيرها في الخلايا اللمفاوية بوصفها خلايا طبيعية، الى جانب كونها خلايا مناعية.

تضمنت هذه الدراسة تحضير 3 انواع من المستخلصات الخام لبذور الكتان باستخدام مجموعة من المذيبات وهي: مستخلص زيتي باستخدام الهكسان، مستخلص مائي باستخدام الماء المقطر ومستخلص اللكنان الذي استلزمت عمليته استخلاص مزيج من عدة انواع من المذيبات لفصل الزيت عن البذور اولا ثم الحصول على المركب اللكنان الخام.

اجرى اختبار السمية الخلوية للتعرف على الفعالية السمية للمستخلصات الخام لبذور الكتان لثلاثة انواع من خطوط الخلايا السرطانية البشرية، هي الخط الخلوي لسرطان الحنجرة Hep-2، الخط الخلوي لسرطان عنق الرحم Hela، الخط الخوي لسرطان العضلة RD وباستخدام ثمانية تراكيز لكل نوع من هذه المستخلصات الخام وهي: (7.81، 15.62، 31.25، 62.5، 125، 250، 500 و1000) مايكروغرام/ مل، ولثلاث مدد من التعريض هي: (24، 48 و72) ساعة.

اشارت النتائج الى وجود تأثير سمي واضح وتدريجي وبمعنوية عالية لمستخلصات الخام في نمو الخلايا السرطانية، وخلال مدد التعريض الثلاث، علماً ان شدة السمية كانت تزداد بزيادة التركيز ومدة التعريض، لذا فأن طبيعة التأثير السمي لتلك المستخلصات كان معتمدا على التركيز ومدد التعريض ولجميع الخطوط الخلوية السرطانية.

تباينت المستخلصات الخام لبذور الكتان في شدة سميتها تبعا لنوع المستخلص ونوع الخط الخلوي المستخدم وذلك عن طريق ايجاد التركيز القاتل لنصف عدد الخلايا السرطانية (CC50) لكل مستخلص ولكل نوع من انواع الخلايا، وقد لوحظ عن طريقه ان المستخلص المائي كان اشد المستخلصات سمية يليه مستخلص الكتان الخام ثم المستخلص الزيتي، اما بالنسبة للخطوط الخلوية فقد كان الخط الخلوي Hela اكثرها حساسية وتأثيرا بالمستخلصات الخام يليه الخط الخلوي RD يليه الخط الخلوي Hep-2 والذي كان اقلها تأثيرا وحساسية لهذه المستخلصات.

تم اجراء بعض الاختبارات الخلوية الوراثية لمعرفة طبيعة تأثير المستخلصات الخام لبذرة الكتان في الهيئة الكروموسومية ومعامل الانقسام الخلوي (MI) لخلايا الخطين السرطانية Hep-2 و RD وقد درس الهيئة الكروموسومية للخلايا قبل وبعد المعاملة بالمستخلصات الخام وكانت النتيجة عدم وجود تأثير ملحوظ في الهيئة الكروموسومية للخلايا بعد معاملتها بتلك المستخلصات بالمقارنة مع الهيئة الكروموسومية للخلايا قبل المعاملة، وذلك لكثرة التغييرات الكروموسومية التركيبية والعددية التي يعاني منها، كما ساهمت المستخلصات الخام لبذرة الكتان في خفض معامل الانقسام الخلوي لخلايا تلك الخطوط السرطانية عند المقارنة مع السيطرة، مما يؤكد وجود تأثير سمي لتلك المستخلصات الخام في نمو الخطين السرطانين خارج الجسم الحي.

اجريت دراسة لتأثير المستخلصات الخام لبذرة الكتان في الخلايا اللمفية البشرية، ولم يكن لهذة المستخلصات تأثيرات واضحة في الهيئة الكروموسومية للخلايا عند التراكيز الواطئة، كما اسهمت تلك المستخلصات في خفض معامل الانقسام (MI)، ومعامل التحول الارومي (BI) للخلايا اللمفاوية التي عوملت بها، وقد كانت التراكيز المرتفعة ذات سمية عالية للخلايا وبالخصوص المستخلص المائي الذي كان اشد تلك المستخلصات سمية يليه مستخلص الكتان ثم المستخلص الزيتي الخام.

تأثير المستخلصات الخام لحبوب الكلغان *Silybum marianum* L. على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية

اسراء صكر سلمان؛ محمد عبد الهادي غالي؛ ناهي يوسف ياسين

يعد هذا البحث دراسة استكشافية عن المركبات الفعالة لنبات الكلغان *Silybum marianum* المحلي بشكلها الخام للتأثير في نمو خطوط الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي ،فضلا عن دراسة تأثير تلك المركبات في انقسام الخلايا اللمفية للانسان واستخدامها كمواد مشطرة او كمواد موقفة للانقسام . تضمنت الدراسة ما يأتي:

اولاً: تم تحضير ثلاثة مستخلصات خام لنبات الكلغان باستعمال طريقتين من طرائق الاستخلاص هما طريقة التنقيع والتحريك، باستعمال نوعين من المذيبات الماء المقطر والكحول الاثيلي لتحضير المستخلص المائي والمستخلص الايثانولي، والطريقة الاخرى العصر للحصول على الزيوت الثابتة Fixed oils .وقد تباينت نسبة المستخلص بين مذيب واخر، حيث بلغت نسبة المستخلص المائي والايثانولي والزيتي (11.46%,6.86%,15.10%) على التوالي.

ثانياً: دراسة اختبار الفعالية السمية للمستخلصات الخام على الخطوط الخلوية السرطانية لسرطان الحنجرة البشري (Hep-2) وسرطان العضلة البشرية (RD) وسرطان الغدة اللبنية للفأر(AMN-3) والخلايا الطبيعية لجنين الجرذ (REF) بعشرة تراكيز (0.1، 1، 2.5، 5، 10، 10، 250, 500, 1000, 10000 مايكروغرام /مل)، ضمن مدد تعريض مختلفة (24 , 48 , 72) ساعة و 72 ساعة فقط عند الخط الخلوي الطبيعي لجنين الجرذ (REF)، اظهرت النتائج وجود تأثير سمي واضح وبمعنوية عالية لتلك المستخلصات الخام في نمو الخلايا السرطانية وخلال المدد من التعريض الثلاثة، علما ان شدة السمية ازدادت بزيادة التركيز ومدة التعريض للمستخلصين المائي والايثانولي، اما المستخلص الزيتي فقد اعتمد التأثير السمي للخلايا على مدة التعريض فقط، اذ سببت التراكيز الواطئة والعالية انخفاض في النسب المئوية لحيوية الخلايا بينما سببت التراكيز الوسطية ارتفاع النسبة المئوية لحيوية الخلايا.

لم يكن هنالك تأثير واضح و معنوي لنفس المستخلصات الخام في نمو الخلايا الطبيعية لذا قد يكون للمركبات الايضية لنبات الكلغان بعض التخصص في التأثير السمي في نمو الخلايا السرطانية دون الطبيعية . كما لوحظ ان المستخلص الزيتي هو الاكفأ والافضل تأثيرا في نمو الخطوط الخلوية السرطانية.

ثالثاً: اظهرت النتائج عدم وجود تأثير سمي على نمو الخلايا اللمفية ولم تظهر تلك المستخلصات فروق معنوية كمواد مشطرة او موقفة للانقسام الخيطي عند مقارنتها بمجموعة السيطرة.

تأثير المستخلص المائي الخام لقشور الرمان على خطوط الخلايا السرطانية النامية في الزجاج والفئران

اسيل ياسين كاظم؛ مهند محمد نوري؛ شلال مراد حسين

اجريت هذه الدراسة لمعرفة تاثير اهم المكونات الموجودة في قشور ثمار الرمان والمعروف بمستخلص حامض اللاجيك الخام (Ellagic acid). حيث تم دراسة التاثير السام لهذا المستخلص على نمو الخلايا الورمية المتمثلة بخط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN3) وخط خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) وبالمقارنة مع خط الخلايا المولدة للالياف لجنين الجرذ (Ref) بالاضافة الى الخلايا اللمفاوية البشرية وذلك باستخدام تقنية الزرع النسيجي في الزجاج. كما تم دراسة التاثير السمي الحاد لمستخلص حامض اللاجيك الخام في الفئران المختبرية وبدلالة الجرعة الوسطية المميته LD50 ودراسة التاثير العلاجي له في الفئران المغروسة بسرطان الغدة اللبنية الفأري.

لقد اظهرت نتائج التحليل الكيميائي النوعي بان حامض اللاجيك الخام المستخلص من قشور الرمان باستخدام خلات الاثيل يحتوي على الكلايكوسيدات والتانينات والفلافونيدات مع خلوه من الستيرويدات والتربينات والقلويدات.

اظهرت دراسة فحص السمية في المزارع النسيجية بأن حامض اللاجيك الخام له تاثير سمّي على خطوط الخلايا النامية في الزجاج ،حيث سبب اعلى نسبة تثبيط بعد معاملة الخلايا بتركيز 700 مايكروغرام /مل ولمدة 72 ساعة وكانت نسب التثبيط لكل من خط Ref،AMN3، Hep-2 هي 32%، 59.27%، 56.64% على التوالي.

وعند دراسة تاثير هذا المستخلص على الخلايا اللمفاوية لدم الانسان المنماة في الزجاج ولفترة حضانة 72 ساعة فقد اظهرت النتائج تثبيط متزايد بزيادة تركيز حامض اللاجيك الخام وبدلالة معامل التحول الاروميBI ومعامل الانقسام الخيطي MI حيث كان التثبيط 100% عند التركيز 600 مايكروغرام /مل.

ومن جهة اخرى اظهرت دراسة تأثير مستخلص حامض اللاجيك الخام داخل الجسم الحي بأن له سمية متوسطة على الفئران المختبرية بدلالة الجرعة الوسطية المميته LD50 حيث بلغت 935.25 ملغم /كغم. اما دراسة التأثير العلاجي لمستخلص حامض اللاجيك الخام وبجرعتين (46.762، 93.525) ملغم/كغم في الفئران المختبرية الحاملة لسرطان الغدد اللبنية فقد اظهرت النتائج تأثيراً مثبطاً لحجم الورم بلغت نسبته 97.4%، 61.8% على التوالي بعد 5 اسابيع من بدء العلاج. وعند دراسة الفحص النسيجي لكتلة الورم اظهرت النتائج وجود تنخر في كتلة الورم للفئران المعالجة بالجرعة العالية (93.525) ملغم/كغم، وارتشاح كثيف للخلايا الالتهابية مع وجود تنخر داخل الكتلة الورمية للفئران المعالجة بالجرعة الواطئة

(46.762) ملغم/كغم، في حين لم تكن هنالك تأثيرات سمية واضحة على الاعضاء الداخلية (الكبد، الطحال، الكلية) لجميع الفئران المعالجة بالجرعةالعالية والواطئة.

دراسة تأثير المركبات الفينولية المستخلصة من قشور ثمرة العنب *Vitis vinifera* في بعض الخطوط الخلوية (في الزجاج)

زينب ياسين محمد؛ عصام فاضل عواد؛ ناهي يوسف ياسين

هدفت هذه الدراسة استخلاص وتنقية المركب الفينولي Resveratrol من قشور نبات العنب الاسود *Vitis vinifera* المزروع في العراق. تم الحصول على مادة منقاة جزئيا بعد اجراء عملية عمـــود الفصـــل الكروماتوغرافي Column Chromatography. وباستعمال كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة التحضيرية PTLC تم الحصول على بلورات المادة النقية والتي تم التعرف على كونها مزيج من النظيرين (trans resveratrol و cis resveratrol) مقارنة مع المادة القياسية Trans-Resveratrol standard (تم الحصول على 35 ملغم لكل ½ كغم قشور عنب الطرية كنتيجة لهذه الخطوات).

اجريت كشوفات كيمياوية واختبارات للتعرف على نوعية البلورات النقية وقد شملت: اختبارات عامة لمركبات الفينولات المتعددة، كشف المركبات الحلقية غير المشبعة، الكشف بالمطياف الضوئي لمعرفة منحنى اقصى امتصاص، طريقة تحليل كروموتوكرافيا السائل عالي الكفاءة ،كشف فورير لتحويل الاشعة تحت الحمراء ودرجة انصهار المادة مع المقارنة بالمادة القياسية لجميع الاختبارات.

تضمنت الدراسة فضلا عن ذلك تقييم خارج الجسم الحي للفعالية السمية الخلوية للمادة النقية والمنقاة جزئيا ومدى تأثيرهما في بعض الخطوط السرطانية والطبيعية والتي شـملت (خط سرطان الظهارة للغدة اللبنية الفأرية AMN-3 cell line وخط سرطان ظهارة الحنجرة البشري Hep-2 cell line والخط الخلوي الطبيعي لجنين الفار Ref cell line عند تعريضها لمختلف التراكيز وفترات العلاج.

شملت تراكيز المادة المنقاة جزئياً (7.812 – 4000) مايكروغرام /مل في الانواع الثلاثة من الخطوط الخلوية ولمدتي تعريض 48 و 72 ساعة. وكانت التأثير السمي في تثبيط النمو الخلوي، ذو فرق معنوي ولكل نوع من انواع الخطوط الخلوية الثلاثة.

وقد اجريت دراسة التاثير السمي الخلوي للمادة النقية بالمقارنة مع المادة القياسية trans-resveratrol بالتراكيز (12.5، 25، 50، 100) مايكرغرام/مل لكل من المادة المستخلصة والمادة القياسية وايضاً شملت المقارنة علاج Methotrexate بالتراكيز (0.05، 0.1، 0.2، 0.4) مايكروغرام/مل على الخطوط الثلاث ولفترات تعريض (24، 48، 72) ساعة.

ان الفعالية التثبيطية السمية التي أظهرتها المادة النقية أظهرت فروق معنوية وضمن المستوى ($P<0.01$) لكل التراكيز بالاخص بعد مرور 24 ساعة ولخط خلايا سرطان الظهارة للغدة اللبنية

والخط الخلوي الطبيعي لجنين الفأر اما خط سرطان ظهارة الحنجرة البشري فكانت استجابته لتأثير المادة النقية المستخلصة بشكل يختلف عن بقية الخطوط الخلوية.

ايضاً اوضحت الدراسة مقارنة التاثير السمي الخلوي لكلا المستخلصين المنقى جزئيا والمنقى كليا في الخطوط الخلوية الثلاث وظهر ان التراكيز المختلفة تعطي اختلاف بالتاثير وان المادة النقية كانت اكثر تأثيراً تثبيطياً من المنقاة جزئياً.

كما اظهرت الدراسة الوراثية الخلوية للمادة المستخلصة المنقاة كليا على انقسام خلايا الدم اللمفاوية البشرية الطبيعية ان مادة Resveratrol عمل على تثبيط فعل المادة المشطرة (PHA) وابدت تاثيراً بفروق معنوية وضمن مستوى ($P<0.01$) لكل التراكيز كمادة مضادة للانشطار الخلوي ومضادة لتكوين الخلايا الاورومية بشكل يتناسب مع زيادة التركيز المستخدم ومع زمن التعريض.

تأثير المستخلصات الخام لسيقان نبات *Lactuca serriola* L. على الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية

ايمان اسماعيل عبد الحميد؛ عبد الحكيم احمد العبد الله؛ ناهي يوسف ياسين

يعد هذا البحث دراسة استكشافية لفعالية مركبات الايض الثانوي في مستخلصات نبات الخس البري *Lactuca serriola* بشكلها الخام والحليب النباتي في التأثير على نمو الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي.

جرى تحضير مستخلصات الجزء النباتي للسيقان باستعمالِ نوعين من المذيبات هما (الماء المقطر والميثانول)، وقد تباينت نسب المذيبات وكانت نسبة المستخلص المائي للسيقان (8.08%) والمستخلص الميثانولي (8.2%)، كما تم جمع الحليب النباتي لهذا النبات واستخدامهِ في هذه الدراسة. تم الكشف عن المركبات الفعّالة للمستخلصات والحليب النباتي عن طريق استعمال الكواشف التمهيدية وكانت النتيجة احتواء النبات على التانينات، الفلافونويدات، القلويدات، التربينات، الرزين، فضلاً عن احتوائهِ الكلايكوسيدات في المستخلصين الخام لسيقان هذا النبات وعدم وجودها في الحليب النباتي ولم تظهرْ مؤشرات لوجود السابونينات والستيرويد في النبات.

أختبرت فعالية المستخلصات الخام والحليب النباتي لنبات الخس البري في الخطوط الخلوية السرطانية (RD, Hep-2, AMN-3) والخلايا الطبيعية (REF) بثمانية تراكيز مختلفة هي على التوالي (78.125، 156.25، 312.5، 625، 1250، 2500، 5000، 10000) مايكروغرام/مليلتر. وضمن ثلاث مدد من التعريض (24، 48، 72) ساعة، ماعدا الخط الخلوي الطبيعي لجنين الجرذ (REF) الذي تم تعريضه لمدة 72 ساعة فقط.

وقد اظهرت النتائج وجود تأثير سمي معنوي واضح للمستخلصات الخام والحليب النباتي في نمو الخلايا السرطانية لثلاث مدد من التعريض، ووجد أن التأثير السمي للمستخلصات الخام والحليب النباتي يعتمد، على التركيز ومدة التعريض، وعدم اعتماد التأثير السمي للحليب النباتي عند معاملة الخط الخلوي السرطاني (AMN-3) على التركيز. في حين لم يكن هناك تأثير سمي واضح وذو معنوية عند معاملة الخلايا الطبيعية (REF) بالمستخلص المائي الخام للسيقان، وكذلك عند معاملتها بالحليب النباتي إذ لم يكن هنالك تأثير سمي واضحٌ بل تحفيز على نمو الخلايا الطبيعية عند التراكيز العالية، وكان هنالك تأثير سمي عند معاملة الخلايا الطبيعية بالمستخلص الميثانولي الخام للسيقان يبدأ من التركيز 2500 مايكروغرام/مليلتر وباتجاه التراكيز العالية.

ولقد اختلفت افضلية المستخلص الاكفأ في التاثير السمي على الخطوط الخلوية السرطانية باختلاف نوع المستخلص والتركيز والخط الخلوي السرطاني.

تأثير الفينولات المتعددة المستخلصة من الشاي الأخضر *Camellia sinensis* في الخلايا الطبيعية والسرطانية داخل وخارج الجسم الحي

محفوظة عباس عمران؛ غازي منعم عزيز؛ ناهي يوسف ياسين

إستخلصت الفينولات المتعددة من الشاي الأخضر مائياً وفصلت التربينات بإستعمال الكحول المثيلي، وقد شخصت المركبات الفعالة في المستخلصات الناتجة بوساطة الطرائق الكيميائية التقليدية، إذ مثلت الفينولات المتعددة (F1) 27.6 % ، والتربينات (F2) 3.0 % من الوزن الجاف. وبلغت حصيلة الكاتيكينات في جزء الفينولات المتعددة 67.2 % من مكوناته بإستعمال كروموتوغرافيا السائل الفائق الكفاءة.

أظهرت النتائج أن التجريع المفرد بكلا تركيزي الكاتيكول (156 و 234 ملغم / كغم) سبّب انخفاضاً في نسب Mitotic index (MI) وBlastogenic index (BI) مع ارتفاع في نسب Micronucleus (MN) ، ولم ينتج من معاملة الحيوانات بالكاتيكينات 0.05% فروقاً معنوية في نسب BI وارتفاعاً معنوياً في MI مع ظهور انخفاض في MN ، وتحسنت المؤشرات الوراثية MI، و BI، و MN نحو الأفضل في المعاملات المتداخلة بين الكاتيكينات والكاتيكول، بينما سجل إنخفاضاً معنوياً في نسب MI وإرتفاعاً معنوياً في نسب MN في الحيوانات المعاملة بالميثوتركسيت بالقياس مع السيطرة السالبة وبتقدم مدد التجريع. وفي الوقت الذي أظهرت النتائج فروقاً معنوياً في فعالية Glutamate oxaloacetic transminas (GOT) و Glutamate pyruvic transminase (GPT) وتركيز الكرياتنين في المصل لمجموعة الفئران المجرعة بتركيز 156 ملغم/كغم لم تكن الفروق معنوية مع التركيز الثاني من الكاتيكول ، ونتج من تناول الحيوانات للكاتيكينات انخفاضاً معنوياً في GOT ، وارتفاعاً غير معنوياً في GPT، وارتفاعاً معنوياً في الكرياتنين، ولم يكن الإرتفاع في مستوى فعالية الأنزيمين و الكرياتنين معنويةً في مصل مجموعتي

الفئران ذات المعاملات المتداخلة المستمرة للمركبين . بينما ظهر ارتفاع معنوي في GPT في مصل مجاميع الحيوانات كافة والمعاملة بالكاتيكينات التي تسبق او تلي التجريع بالكاتيكول (Pretreatmentو Posttreatment)، مع إرتفاع معنوي GOT في مصل مجموعتي Posttreatment، ونتج من تجريع الميثوتركسيت إرتفاعاً معنوياً في GPT وغير معنوي في GOT وتركيز الكرياتنين معتمداً على تقدم مدد التجريع .

لقد أظهر الفحص المجهري للشرائح النسيجية لطحال المعاملات أجمع التي إستُخدم فيها الكاتيكينات تحفيزاً مناعياً تمثل بالتنسج العام لخلايا اللب الأبيض وتوسع العقيدات الطحالية وملاحظة أعداد كبيرة من الخلايا البلعمية ، بينما لوحظ إحتقان دموي شديد في الأوعية الدموية وتنخر لبعض خلايا طحال الحيوانات المعاملة بالميثوتركسيت والكاتيكول يزداد بزيادة تراكيز ومدد التجريع . وملاحظة إنتفاخ الخلايا الكبدية وتجمع البروتينات السكرية وتوسع للجيبانيات في كبد المعاملات أجمع التي أستعمل الكاتيكينات ، فضلاً عن عدم ظهور تغيرات نسيجية مرضِية في كلية المعاملات أجمع المذكورة آنفاً.

أثبتت النتائج المستحصلة إنخفاضاً عالياً للقدرة التضاعفية حيث بلغت النسب المئوية لتثبيط نمو خلايا Hep-2 و AMN-3 بلغ 83.3 % و 75.3 % بعد 72 ساعة من التعريض للكاتيكينات بتركيز 31.25 و 62.5 مايكروغرام/مللتر على التوالي ، ووصلت النسب المئوية للتثبيط إلى 52.2 % و 19.1 % لخلايا سرطان الدماغ وخلايا REF-3 المعاملة بالكاتيكينات بتركيز 500 و 250 مايكروغرام/مللتر على التوالي ولمدة التعريض ذاتها . وبلغ أقصى إنخفاض للقدرة التضاعفية لخلايا Hep-2، و MNA-3 72.5 %، و 74.1 % بعد 72 ساعة من التعريض للكاتيكول بتركيز 62.5 و 250 مايكرومولار على التوالي ، وظهر إنخفاض كبير للقدرة التضاعفية لخلايا سرطان الدماغ بلغ 80.9 % عند التركيز 1000 مايكرومولار ، في حين تجاوزت القدرة التضاعفية (النسبة المئوية لحيوية الخلايا) لخلايا REF-3 100 % عند المعاملة بالتراكيز التي تساوي أو تزيد عن 250 مايكرومولار من الكاتيكول ولمدة 72 ساعة . وتطلّب تثبيط نمو خلايا Hep-2 و AMN-3 لما يقارب 50 % تراكيز أعلى من التربينات (125 – 250 مايكروغرام/مللتر) ، واستحصلة على أقصى نسب مئوية لتثبيط نمو خلايا سرطان الدماغ بإرتفاع تراكيز التربينات إذ بلغ أقصاها 70.5 % عند التركيز 1000 مايكروغرام/مللتر، في حين كان 17.9 % لخلايا REF-3 عند المعاملة بتركيز 62.5 مايكروغرام/مللتر من التربينات ولمدة 72 ساعة من التعريض.

كما نتج من التعريض المتداخل للكاتيكول (31.25 - 250) مايكرومولار والكاتيكينات بتراكيز تراوحت بين 31.25 - 250 مايكروغرام/مللتر إنخفاض كبير في النسب المئوية لحيوية خلايا Hep-2 المعاملة بالتراكيز المرتفعة من الكاتيكول معتمداً على وجود الكاتيكينات بعد 72 ساعة من التعريض ، يليه الإنخفاض الحاصل للنسب المئوية لحيوية خلايا AMN-3 المعتمد على تراكيز الكاتيكول المستعملة بوجود التراكيز المرتفعة من الكاتيكينات ، ولم يسجل للكاتيكينات تأثير إيجابي في خفض النسب المئوية لحيوية خلايا سرطان الدماغ المعاملة بالكاتيكول ولكلا مدتي التعريض

(48 و72 ساعة) ، وكان للتراكيز المتزايدة من الكاتيكينات تأثير فعال في تعديل النسب المئوية لحيوية خلايا REF-3 (تخفيض التأثير السمي) المُحثة بفعل الكاتيكول بعد 72 ساعة.

أظهرت الكاتيكينات دوراً مهماً في إرتفاع التأثير السمي لعقاري Doxorubicin (DOX) و Mytomycin-C (MMC) المستعملين في علاج الأورام، إذ إرتفع التأثير السمي لخلايا Hep-2 بمقدار 1.9 مرة وتجاوز الضعف (2.49 مرة) لخلايا AMN-3 عند المعاملة بالكاتيكينات بتركيز 31.25 مايكروغرام/مللتر مع 15 و 20 مايكروغرام/مللتر من DOX على التوالي. كما تضاعف التأثير السمي لخلايا سرطان الدماغ عند المعاملة بالكاتيكينات بتركيز 125 مايكروغرام/مللتر مع 10 مايكروغرام/مللتر من DOX موازنة مع التأثير السمي للتراكيز ذاتها من العقار بمفرده. بينما إنخفض التأثير السمي للخلايا الطبيعية المعاملة بتراكيز متزايدة من العقار بوجود الكاتيكينات . وكان لوجود الكاتيكينات تأثير سام لخلايا Hep-2 بما يزيد عن ثلاثة أضعاف مع المعاملة بتركيز 5 مايكروغرام/مللتر من MMC، وتقارب التأثير السمي لخلايا AMN-3 من الضعف عند المعاملة بالتراكيز المرتفعة من الكاتيكينات مع 10 مايكروغرام/مللتر من MMC ولم تسجل أيّة إستجابة لخلايا سرطان الدماغ لوجود الكاتيكينات مع MMC قياساً مع التأثير السمي للتراكيز ذاتها من MMC بمفرده، ونتج من معاملة الخلايا الطبيعية بالكاتيكينات والتراكيز المتزايدة من المايتومايسين إنخفاض في التأثير السمي وتعديل القدرة التضاعفية لها بعد 24 ساعة من التعريض.

تأثير المستخلص الخام للكركم على خطوط الخلايا السرطانية

فراس صبحي صالح الطائي؛ نادية طارق بركات؛ طيبة حكمت جعفر؛ خنساء رائد داود

أشارت دلائل كثيرة بأن هناك اصناف عديدة من المركبات الموجودة في النباتات تظهر فعالية مضادة للسرطان بطرق مختلفة. والكركم هو احد النباتات الطبيعية التي تمتلك فعاليات بايولوجية وتأثيرات دوائية مختلفة. في الدراسة الحالية، اظهرنا الفعالية المضادة للورم للمستخلص المائي والكحولي للكركم ؛ حيث تمت دراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات الكركم على احد الخطوط الخلوية السرطانية نوع Hep-2 ومقارنةً مع خط خلايا طبيعية. وقد وجد ان هناك تأثير تثبيطي لهذه المستخلصات في منع نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني Hep-2. ولم يظهر اي تأثير على خط الخلايا الطبيعي ، وهذه النتائج تشير الى وجود تأثير مضاد للاورام في هذه المستخلصات والتي تحتاج الى دراسات مستفيضة اخرى.

التأثير التثبيطي للنمو لمستخلصات بذور اللهانة على خط الخلايا السرطانية Hep-2

شلال مراد حسين؛ فراس صبحي صالح الطائي؛ خنساء رائد داود السعدي؛ نادية طارق بركات؛ رشا عبد الامير حسين

تعتبر النباتات واحدة من اكثر مكونات الطبيعة التي لها فوائد مختلفة الجوانب. والنبات سيبقى ذا اهمية كبيرة كمصدر للعلاجات الطبية وقد اثمرت جهود المراكز البحثية والباحثين في تطوير العديد من العلاجات، ولهذا تمت دراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنبات اللهانة على احد الخطوط الخلوية السرطانية نوع Hep-2 ومقارنةً مع خط خلايا طبيعية، وقد وجد ان هناك تأثير تثبيطي لهذه المستخلصات في منع نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني Hep-2. ولم يظهر اي تأثير على خط الخلايا الطبيعي، وهذه النتائج تشير الى وجود تأثير مضاد للاورام في هذه المستخلصات والتي تحتاج الى دراسات مستفيضة اخرى.

دراسة بعض التأثيرات الحياتية للكولسينات في الخلايـا الطبيعيـة والسرطانيـة خـارج وداخـل الجسـم الحـي

هند حسين عبيد؛ رجوة حسن عيسى؛ ناهي يوسف ياسين

هدفت الدراسة التحري عن التأثير السمي للكولسينات الخام الحرة في الخلايا الطبيعية والسرطانية داخل وخارج الجسم الحي وبجوانب عدة. لتحقيق هدف الدراسة تمّ أولاً تحضير مستخلصات الكولسينات من عزلات بكتيريا *Escherichia coli* (تنتمي إلى المايكروفلورا المعوية الطبيعية) المنتجة لتلك المضادات البروتينية (Proteinic antibiotics) وفقاً للآتي:

1- تمّ جمع (50) عينة براز من أشخاص أصحاء، ثم عزلت بكتيريا *E.coli* وشخصت إعتماداً على الفحوصات الكيموحيوية، فضلاً عن استخدام نظام Api 20-E، وبذلك تم الحصول على (45) عزلة نقية منها. بعدها تمّ التحري عن العزلات البكتيرية المنتجة للكولسين باستخدام طريقة أقراص الأكار (Cup assay) ومن خلال ذلك تم الحصول على 39 (86.6%) عزلة منتجة.

2- انتخبت أربع عزلات منتجة لكولسينات حرة (Non-bound Colicin) وهي (H_5, H_9, H_{13}, H_{19})، بعد أن تم حث الإنتاج باستعمال المايتومايسين-C واستخلاص تلك الكولسينات، فقد أعطت أعلى فعالية تثبيطية (20480، 5120، 10240، 5120) وحدة/مل، وأكثر إنتاجية للبروتين (5500، 4930، 5850، 5100) مكغم/مل وأكبر أقطار مناطق منع نمو (15، 15، 18، 12) ملم على الترتيب.

3- عقمت الكولسينات المحضرة باستخدام الكلوروفورم (10%). أما عن أفضل درجة حرارة خزن فكانت (4ْم)، فقد احتفظت المستخلصات الاربعة بفعاليتها لمدة (سنة). واخيراً فقد ركزت الكولسينات المحضرة باستعمال السكروز.

ثم درست التأثيرات السمية للكولسينات (H_5, H_9, H_{13}, H_{19}) المحضرة والتي شملت محورين أساسين:

<u>المحور الأول</u>: تضمن دراسة التأثيرات السمية في الخلايا الطبيعية، وشمل بدوره جانبين:

أولاً- دراسة التأثير السمي للكولسينات في الخلايا الطبيعية خارج الجسم الحي، من خلال التحري عن:

- التأثير الحال (lysis) للكولسينات في كريات الدم الحمراء للإنسان.
- التأثير السمي للكولسينات في خلايا الدم البيضاء.
- التأثير السمي الوراثي الخلوي للكولسينات في الخلايا اللمفاوية المنقسمة، وتضمن دراسة : [معامل التحول الارومي (BI) ، معامل الانقسام الخيطي (MI) ، دورة توالي الخلية (CCP) ، معامل التضاعف (RI) ، التغيرات الكروموسومية (CA) ، التبادل الكروماتيدي الشقيق (SCE)].

- تأثير الكولسينات في فعالية ووظيفة بعض الخلايا المناعية.

ومنها تم الحصول على النتائج الآتية:

- عدم امتلاك الكولسينات الأربعة تأثيراً سمياً في كريات الدم الحمراء للإنسان وبأصنافها الأربعة.
- اعتمد التأثير السمي للكولسينات في خلايا الدم البيضاء الساكنة على التركيز المستخدم، إذ لم تؤثر التراكيز الواطئة في عيوشية الخلايا، أما التراكيز المرتفعة فإنها قللت من حيوية خلايا الدم البيضاء وبعد ساعةٍ من التعريض.
- لاتمتلك المضادات البروتينية المدروسة تأثيراً سمياً مطفراً في المادة الوراثية (DNA) للخلايا اللمفاوية المنقسمة للإنسان، إذ لم تسبب رفع النسبة المئوية للتغيرات الكروموسومية (CA) ولم تحصل زيادة في معدل التبادل الكروماتيدي الشقيق التلقائي (SCE) مقارنةً بمعاملة السيطرة السالبة ($P>0.05$).
- اعتمد تأثير الكولسينات في الـ (BI ، MI ، CCP، RI) على التركيز المستخدم، فقد امتلكت التراكيز المرتفعة تأثيراً سمياً مثبطاً لتلك المعاملات، كان أشدها تأثيراً كولسين (H_9)، في حين رفعت التراكيز الواطئة لكولسين (H_5) من كفاءة الخلايا في التحول والانقسام بوجود المادة المشطرة (PHA).
- حفزت الكولسينات المدروسة وبالأخص النوع (H_5) فعالية الخلايا المناعية، فقد ازدادت كفاءة الخلايا البلعمية في التهام الخميرة المقتولة كما وحفزت من قدرتها على إنتاج أيون السوبر أوكسايد($O_2^{\bullet}$). رفعت المضادات
- البروتينية من قدرة الخلايا التائية على تكوين التشكيل الزهري فضلاً عن تحفيز تحول وانقسام الخلايا اللمفاوية بتراكيز معينة.

ثانياً- دراسة التأثير السمي للكولسينات في الخلايا الطبيعية داخل الجسم الحي (باستخدام الفئران البيضاء)، من خلال:

- تحديد الجرعة المميتة الوسطية (LD_{50}) ودراسة التأثيرات المرضية الخارجية في الحيوان.
- التأثيرات السمية الوراثية الخلوية للكولسينات في خلايا نخاع عظام الفئران.
- التأثيرات السمية للكولسينات في فعالية أنزيمات الكبد ونسبة الكرياتنين في الكلية (Creatinin, ACP, ALP, GPT, GOT).
- دراسة التأثيرات السمية المرضية النسيجية في أعضاء الحيوان المعامل (Heart, Spleen, Kidney, Liver).

ومنها تم التوصل إلى النتائج الآتية:

- أكثر أنواع المستخلصات سميةً على الفئران المعاملة هو كولسين (H_{13}).
- تأثير الكولسينات على معاملات (RI, BI, MI وCCP) لخلايا نخاع عظام الفئران لم يختلف عما هو عليه في الخلايا اللمفاوية للإنسان خارج الجسم الحي، فقد اعتمدت التأثيرات بصورة أساس على التركيز المستخدم، فالمرتفعة منها سببت انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) واضحاً في

تلك المعاملات خصوصاً عند استخدام كولسين (H_9)، في حين حفزت التراكيز الواطئة من قدرة خلايا نخاع العظم على التحول والانقسام باستخدام كولسين (H_5).

- أكدت النتائج عدم امتلاك الكولسينات قيد الدراسة تأثيراً سمياً مطفراً في خلايا نخاع عظام الفئران مما يعزز النتائج نفسها التي تم الحصول عليها باستخدام الخلايا اللمفاوية البشرية كنظام اختباري خارج الجسم الحي.
- لم تؤثر الكولسينات سلبياً في فعالية أنزيمات الكبد، بل على العكس قد رفعت من تركيز أنزيمي (GOT وALP) عند استخدام التراكيز المرتفعة (160 و200) ملغم/كغم وبصورة معنوية، أما أنزيمي
(GPT وACP) فلم يتأثرا مطلقاً، في حين سبب المضادان (H_{13}) و(H_9) تأثيراً سمياً في فعالية خلايا الكلية تمثل بزيادة تركيز الكرياتنين فيها.
- بينت الدراسة النسيجية المرضية بأن الكولسينات المدروسة لاتمتلك تأثيراً سمياً في كل من القلب والكبد والطحال (عند المعاملة بجرعة مرتفعة مقدارها (200) ملغم/كغم ولكل نوعٍ منها)، لكن وجدت هناك تأثيرات مرضية في الكلية باستخدام الجرعة نفسها تمثلت بحصول توسع في الأنابيب البولية وبأعداد كبيرة مع تواجد القوالب البروتينية مما يشير لوجود قصور في عملية الترشيح الكبيبي، وكان كولسين (H_{13}) هو الأكثر سمية مقارنةً بأنواع المستخلصات الأخرى.

المحور الثاني: تضمن دراسة التأثيرات السمية في الخلايا السرطانية وشمل ثلاثة جوانب:

أولاً- دراسة التأثير السمي للكولسينات في سرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران.

- وجد أن المضادات البروتينية الأربعة تمتلك تأثيراً مثبطاً لنمو خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AM_3) عند استعمال الحقن داخل الورم وبجرعة مقدارها (200 ملغم/كغم)، فقد بلغت نسبة تثبيط نمو الورم (98.79، 90.45، 90.08، 88.26)% للكولسينات (H_5, H_9, H_{13}, H_{19}) على التوالي. أما الحقن داخل التجويف البريتوني، فإنه سبب أيضاً تأثيراً سمياً في تلك الخلايا لكن بنسب تثبيط نمو أقل مما أعطاه الحقن المباشر داخل الورم فبلغت (57.47، 36.25، 60.26، 53.25)% على الترتيب للكولسينات نفسها عند المعاملة بجرعة مقدارها (200) ملغم/كغم/24 يوماً. فضلاً عن ذلك أظهر الفحص النسيجي للأورام المعالجة وجود مناطق نخر كبيرة مع قلة عدد الخلايا السرطانية فضلاً عن ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية مع وجود طبقة سميكة من النسيج الليفي، وعن أفضل المستخلصات المستخدمة كان كولسين (H_5) فقد وصل الحيوان تقريباً إلى حالة الشفاء.

ثانياً- دراسة التأثير السمي للكولسينات في خطوط الخلايا السرطانية (Hela, RD, AMN-3, Hep-2).

- توصلت الدراسة إلى أن تأثير الكولسينات السمي يعتمد على نوع الخلايا ونوع الكولسين المستخدم، ومقدار الجرعة ووقت التعريض.

- وجد أن خلايا Hela هي الأكثر حساسيةً من بين الأنواع الأخرى ثم تبعتها RD، في حين كانت Hep-2 وAMN-3 الأكثر مقاومةً.
- ثبطت التراكيز المرتفعة من نمو الخلايا السرطانية الأربعة وبالأخص التركيز (4000) مكغم/مل، في حين حفزت التراكيز الواطئة مابين (3.9، 62.5) مكغم/مل من تكاثر خلايا Hep-2 وAMN-3، في الوقت الذي سببت التراكيز نفسها تثبيط نمو خلايا RD وHela بنسبٍ متفاوتة.

ثالثاً- دراسة التأثيرات السمية للكولسينات في الخلايا السرطانية لمرضى إبيضاض الدم النخاعيني الحاد (AML) وتضمن:

* دراسة عينات الدم:

- التأثير السمي للكولسينات في الخلايا السرطانية (myeloblast) المعزولة من دم مرضى AML.
- التأثير السمي للكولسينات في إنقسام خلايا الدم السرطانية (myeloblast).
- التأثير السمي للكولسينات في إنقسام الخلايا اللمفاوية لمرضى AML.
- دراسة بعض الفعاليات والوظائف المناعية لخلايا الدم السرطانية والخلايا الطبيعية لمرضى AML.

* دراسة عينات نخاع العظم:

- التحري عن التأثير السمي للكولسينات في إنقسام خلايا نخاع عظام مرضى AML.
- دراسة التغيرات الوراثية الخلوية لخلايا نخاع عظام مرضى AML.

ومنها تم التوصل إلى النتائج الآتية:

- وجد أن الخلايا السرطانية المعزولة من دم مرضى AML أكثر حساسيةً للكولسينات من خلايا الدم الطبيعية للأصحاء، إذ سببت إنخفاض عيوشية تلك الخلايا اعتماداً على التركيز المستخدم ووقت التعريض.
- تمكنت الخلايا السرطانية لمرضى AML من النمو في الزجاج بوجود وسط زرعي نسيجي مزود بـ(20%) من مصل العجل الجنيني.
- لاتمتلك الخلايا السرطانية (myeloblast) القدرة على الإنقسام والتضاعف أو أنها قد تكون ذات إنقسام بطيء جداً.
- تكون الخلايا اللمفاوية لمرضى AML فاقدة القدرة على الانقسام والتضاعف بالرغم من وجود التحفيز بالمادة المشطرة (PHA).
- أظهرت نتائج الدراسة، أن خلايا مرضى AML ذات معامل إنقسام واطئ فقد بلغت أعلى قيمة له (0.52%) لأحد المرضى، في حين كانت السيطرة الموجبة للأصحاء (3.62%) وبفروق معنوية عالية ($P<0.01$).
- وجدت هناك تغايرات كروموسومية في الخلايا الدموية لبعض مرضى AML.
- لم تتمكن الخلايا السرطانية للمرضى من القيام بوظيفة الالتهام، في حين أنتجت أيون السوبر أوكسايد لكن بنسبة انخفاض معنوي ($P<0.05$) عن معاملة الأصحاء. أما خلايا العدلة لمرضى

AML فقد تمكنت من القيام بوظيفة الالتهام، لكن بنسبة انخفاض معنوي مقارنةً بسيطرة الأصحاء. في حين كان إنتاج أيون السوبر أوكسايد طبيعياً. أما الخلايا اللمفاوية التائية فإنها احتوت على الواسم السطحي (CD2)، إذ تمكنت من تكوين الزهيرات أسوةً بخلايا الأصحاء.

- بيّنت النتائج أن خلايا نخاع عظام مرضى AML تمتلك مقاومة تجاه الكولسينات. كما احتوت على تغايرات كروموسومية، فضلاً عن امتلاكها القدرة على التضاعف والانقسام.

التأثير السمي لصبغة البايوسيانين Pyocyanin المستخلصة من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في بعض خطوط الخلايا السرطانية والطبيعية للانسان والحيوان

شيماء صبحي العزاوي؛ لينة عبد الكريم؛ ناهي يوسف ياسين

تم في هذة الدراسة التعرف على على تأثير تراكيز مختلفة من صبغة البيوسيانين في عدد من خطوط الخلايا السرطانية. استخلصت صبغة البايوسيانين بشكل نقي باستخدام الكلوروفورم، وتم الحصول على 0.051 غم من البلورات أبرية زرقاء من الصبغة. مصدر الصبغة كان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* التي غزلت من عدة مصادر مثل التهابات المجاري البولية (الادرار)، والحروق، والتهابات الاذن والجروح والقشع.

للتعرف على التأثير السمي للصبغة استخدمت ثلاثة خطوط للخلايا، كان اثنان منها بشرية سرطانية هما خط خلايا سرطان الحنجرة Hep-2، وخط خلايا سرطان عنق الرحم Hela cell، والثالث خط خلايا جنينية غير ورمية للجرذ FEF.

عوملت الخطوط الثلاثة بتخافيف مضاعفة من البايوسيانين (12.5، 25، 50 و100 مايكروغرام/ مليليتر) ولمدد تعريض اربعة هي: 6، 12، 24 و48 ساعة. اظهرت نتائج التأثير التثبيطي اعتمادا على مدة التعريض لهذه الخطوط الخلوية اذ لوحظ اشد تأثير للصبغة عند التعرض 48 ساعة، وللتراكيز جميعا وفي كل خطوط الخلايا، كما ولم تلاحظ فروق معنوية بين التأثير الاسمي في خطوط الخلايا السرطانية وخط الخلايا الجنينية غير الورمية، بالاضافة الى ان الخلايا اضهرت خضوعها لنظرية الهرموسيز Hormesis hypothesis. كما وجد ان التركيز القاتل لنصف عدد الخلايا CC50 يتباين حسب نوع الخلايا.

كما تمت دراسة تأثير نفس التراكيز السابقة في الخلايا اللمفية بعد عزلها من الدم المحيطي للانسان وزرعها مع وبدون اضافة المادة المشطرة PHA التي قد تم تعريضها لهذة التراكيز (25، 50 و100 مايكروغرام/ مليليتر) لمدة 24 ساعة. فوجد انها تخضع لنظرية الهرموسيز ايضاً، حيث كان للبايوسيانين تأثير مزدوج في الخلايا اللمفية التائية. اذ عند التراكيز الواطئة

(25 و50 مايكروغرام/ مليليتر) كان تأثير الصبغة محفزاً لتكاثر الخلايا، اما عند التراكيز العالية (100 مايكروغرام/ مليليتر) فقد كانت مثبطة لنمو وتكاثر الخلايا. ان اضافة المادة المشطرة اعطت تأثيراً تآزرياً مع صبغة البايوسيانين.

تم الكشف عن تأثير البايوسيانين في المادة الوراثية، بأجراء اختبارين احدهما طريقة التحزيم والذي لم يتم التأكد من خلالها ان الصبغة قد اثرت في الدنا، والاختبار الثاني وهو تقنية الأنوية الدقيقة فقد اظهرت نتيجته حدوث خلل في المادة الوراثية في الخلايا اللمفية المعرضة لـ 50 مايكروغرام/ مليليتر من صبغة البايوسيانين ولمدة 24 ساعة بالقياس مع السيطرة، متمثلا بتكون أنوية دقيقة تاتجة من حدوث قطع في مراكز الكروموسومات أو فشل كروموسوم كامل في الارتباط بخيوط المغزل للانقسام الخيطي خلال عملية cytokinesis وأخراجة من النواة، كما تكونت جسور سايتوبلازمية ناتجة من الكروموسوم ثنائي المركز سحبت مراكزه الى أقطاب متعاكسة من الخلية في الطور anaphase.

عند دراسة التأثير المحلل للبايوسيانين من خلايا خط سرطان الحنجرة Hep-2 بعد زرعها على شريحة زجاجية وتعريضها الى تركيز 50 مايكروغرام/مليليتر من صبغة البايوسيانين عند المدة الزمنية (6، 12، 24 و48 ساعة)، اظهرت النتائج ومن التغيرات المظهرية التي طرأت على الخلية، ان البايوسيانين يؤدي الى تنخر الخلية بدرجة كبيرة ويحفز الموت المبرمج للخلة وخاصة بعد مدة تعريض 48 ساعة.

التحري عن السمية الوراثية للمستخلصات البكتيرية لاشريكيا القولون

نجاح رزاق محمد علي؛ انطوان صبري البنا؛ ناهي يوسف ياسين

نفذت هذه الدراسة للتحري عن السمية الوراثية (genotoxicity) لمستخلصات محضرة من بكتريا اشريكيا القولون (*Escherichia coli*) المعزولة من مصدرين مختلفين من الحالات المرضية، تضمن المصدر الاول اشخاص يعانون من الاصابة بسرطان المثانة (Bladder Cancer)، بينما شمل المصدر الثاني عجول مصابة بمرض colibacillosis. تم الحصول على عشرة عزلات من هذة البكتريا من المصدر الاول شكلت نسبة عزل قدرها 24.4%، وذلك بعد اجراء الزرع الجرثومي لعينات ادرار (41 عينة) جمعت من اشخاص مصابين بسرطان المثانة، فيما تم الحصول على 15 عزلة اخرى من هذة البكتريا سبق عزلها من براز عجول مصابة بالاسهال. وقد اظهرت فحوصات الحساسية الجرثومية للمضاداد الحيوية لكل النوعين من العزلات، تماثلا بينهما تجاه معضم المضادات المستخدمة في هذه الفحوصات، ومنها مقاومتها للامبسلين (Ampicilliin) والسيفالكسين (Cephalixin)، حيث بلغت النسبة المئوية للعزلات المقاومة للامبسلين 60% في كل من العزلات البشرية وعزلات العجول، فيما بلغت هذة النسبة للسيفالكسين 50% و60% في كل النوعين من العزلات على التوالي.

ولغرض ايجاد السمية الوراثية للمستخلصات اشريكيا القولون تم تحضير نوعين من المستخلصات البكتيرية هما: رائق راشح النمو البكتيري supernatant of bacterial growth filtrate (SGF)، ورائق تكسير البكتريا supernatant of ultrasonicated bacteria (SUB)، وذلك من خمسة عزلات فقط من هذة البكتريا، ثلاث منها عزلات بشرية واثنتان من العجول.

وقد استخدمت العديد من الفحوصات الخاصة بالتحليلات الوراثية الخلوية للتحري عن السمية الوراثية لهذه المستخلصات، حيث اجريت هذه الفحوصات على مرحلتين، تضمنت الاولى استخدام تخفيفات مختلفة منها (10^{-2}، 10^{-3} و10^{-4}) حقنت في مزارع الخلايا الدموية اللمفاوية المأخوذة من الدم المحيطي للانسان بوجود المشطر PHA (phytohemegglutinin) في الزجاج (*in vitro*) حيث قيس كل من معامل التحول الارومي Blastogenic Index (B.I.) ومعامل الانقسام الخيطي Mitotic Index (M.I.) لهذة الخلايا، وكذلك حقنت في تجويف الخلب (I.P.) للفئران البيضاء داخل الجسم (*in vivo*) حيث استخرج معامل الانقسام الخيطي (M.I.) في كل من خلايا نقي العظم (bone marrow) والطحال (spleen) لهذة الفئران. وحقنت في الوقت نفسه محاليل ضابطة: دارئ الفوسفات الملحي Phosphate Buffered saline (PBS) PH. 7.2، ومحلول المايتومايسين-C Mitomycin-C) (MMC) بتركيز 100 مكغم/مل كمعاملتين ضابطتين سالبة وموجبة على التوالي. أظهرت النتائج المستحصلة من هذه المعاملات وحود تأثيرات سمية وراثية لهذة المستخلصات وبفروقات ذات قيم معنوية احصائيا على مستوى ($P<0.05$) بالمقارنة مع المعاملات الضابطة السالبة.

اما في المرحلة الثانية من هذه الفحوصات فقد اضيف وحضن تخفيف واحد مؤثر(10^{-2}) من هذه المستخلصات بنوعيها، حيث استخدمت الفحوصات الوراثية الخلوية التالية لقياس تأثير هذه المستخلصات وهي: التبادل الكروماتيدي الشقيق Sister Chromatid Exchange (SCE)، دورة تقدم الخلية Cell Cycle Progression (CCP)، معامل التضاعف Replicative Index (R.I.) والأنحرافات الكروموسومية Chromosomal Aberrations (CA)، وذلك عند حقنها في مزارع خلايا الدم اللمفلوية البشرية في الزجاج (*in vitro*)، والفحوصات: معدل تردد الأنوية الصغيرة Micronuclei) MN) والانحرافات الكروموسومية (CA) عند حقن هذه المستخلصات داخل خلب (I.P.) الفئران، أو معدل التبادل الكروماتيدي الشقيق (SCE) عند حقنها على الغشاء الكوريوني لأجنة بيض الدجاج (chorioallantoic membrane)، داخل الجسم (*in vivo*) وقد اكدت النتائج في هذه المرحلة ايضا وجود تأثير سمي وراثي لهذه المستخلصات بنوعيها وفي كلا النظامين الحيويين المستخدمين في الحقن، وبمستوى معنوي ايضاً، وذلك بالمقارنة مع قيم هذة الفحوصات نفسها المستخدمة في المعاملات الضابطة السالبة والموجبة. وقد ظهر ايضاً وجود تأثير سمي وراثي لمستخلص رائق راشح النمو البكتيري المحضر من العزلات البشرية بمستوى معنوي اكبر من تأثير المستخلص نفسه المحضر من عزلات العجول، ووجود تماثل في حساسية مختلف الفحوصات الوراثية الخلوية المستخدمة في المامالات المختلفة التي نفذت في هذه

الدراسة في كشفها عن وجود تأثيرات سمية وراثية للمستخلصات المضافة، ماعدا فحص الانحرافات الكروموسومية (CA)، الذي ابدى تحسس ضعيف وبمستوى غير مهم احصائياً.

كما اظهرت معظم التجارب ايضا وجود تطابق في نتائج التحري عن السمية الوراثية للمستخلصات البكتيرية عند حقنها في النظامين الحيويين المختلفين، اي داخل الزجاج (*in vitro*) وفي داخل الجسم (*in vivo*).

واجريت في المرحلة الاخيرة من هذة الدراسة عملية تحييد البلازميدات (Plasmid Curing) لثلاث عزلات من هذه البكتريا، واللاتي سبق فحص سميتهن الوراثية، اثنتان منهما من العزلات البشرية وعزلة واحدة من العجول، بأستخدام مادة acridine orange (A0) بتركيز 100 مكغم/مل. حيث اظهرت نتائج حقن المستخلصين البكتيريين SGF وSUP المحضرين من هذه العزلات بالخطوات وطرق الحقن السابقة نفسها، الى وجود تأثير سمي وراثي معنوي لهذه المستخلصات بالمقارنة مع المعاملات الضابطة السالبة مع حدوث انخفاض معنوي في مستوى التأثير السمي الوراثي للمستخلص SGF المحضر من العزلات البشرية بعد تحييد بلازميداتها بالمقارنة مع مستوى تأثيره قبل عملية التحييد، سواء عند حقنه في الزجاج أو داخل الجسم. وتدل هذه النتائج على ان المورثات التي تشفر لانتاج بعض مكونات هذه المستخلصات في هذه البكتريا هي محمولة على بلازميدات وانها فقدت بعد عملية التحييد.

دراسة بكتريولوجية ومناعية للبايوسين المستخلص من الزائفة الزنجارية المعزولة محلياً وتأثيراته على الخلايا السرطانية خارج وداخل الجسم الحي

ماجدة مالك متعب؛ نضال عبد المهيمن؛ ناهي يوسف ياسين

تم عزل وتشخيص 141 عزله بكتيرية تعود للنوع *P. aeruginosa* من مجموع 295 عينة من مصادر مختلفة (الحروق، الجروح، الاذن والادرار) من مستشفيات النجف واستخدمت كونها مصادرا لانتاج البايوسين في هذه الدراسة.

وكشفت نتائج التحري عن قابلية انتاج البايوسين ان العزلات المنتجة للبايوسين تشكل 33.33% من المجموع الكلي لعزلات *P. aeruginosa*. اختيرت العزلة الكفوءة العائدة الى النمط المصلي الشائع 0:11 بكونها مصدرا لانتاج البايوسين اما السلالة المحلية الدالة فكانت تعود الى نمط 0:4 .

تم زيادة انتاج البايوسين مختبريا باستخدام المايتومايسين-C والترسيب باستخدام كبريتات الامونيوم بنسبة اشباع 40% ثم تقنية البروتين المترسب باستخدام نوعين من عمود الفصل الكروماتوغرافي (التبادل الايوني باسخدام مادة EAE-cellulose والترشيح الهلامي باتخدام مادة Sephacryl S-200). قيست فعاليته بطريقة Govan بالتنقيط على السلالات الدالة وطريقة الحفر. واظهرت نتيجة الترحيل الكهربائي استعمال هلام الاكريل أميد المتعدد وجود حزمة واحدة دلالة على ان البايوسين المستخلص كان على درجة من النقاوة وعلى دقة الطريقة المتبعة في الاستخلاص

والتنقية. وقد بلغ الوزن الجزيئي للبايوسين المنقى مايقارب من 52.408 دالتون باستعمال الترشيح الهلامي باستعمال بروتينات قياسية، وسجلت اعلى مستوى من الفعالية عند درجة حرارة 37ْم واس هيدروجيني 6-8 بينما فقد البايوسين الخام والمنقى فعاليته تماما عند الحضن بدرجة حرارة 60ْم لمدة 10 دقائق. وكانت افضل درجة حرارة لتخزين البايوسين المنقى هي 4ْم اما الخام فكانت 20-ْم (التجميد).

احتفظ البايوسين قيد الدراسة بفعاليته عند معملته مع الانزيمات المحللة للاحماض النووية (DNase وRNase) والكلوروفورم(10%) في حين فقد فعاليته تماما بعد معاملته مع التربسين، اللايسوزايم، اليوريا و كبريتات دودوسيل الصوديوم(SDS).

بينت نتائج الفعاليه التثبيطيه للبايوسين تاثيرا معناويا في نمو بعض الجراثيم السالبه لصبغه كرام فقط *Neisseria gonorrhoeae*، *Escherechia coli*، *Kjebsiella spp* و *P.Flourecsense* ولم يبدي تأثيراً ضد مايكروبي نحو الجراثيم الموجبة لصبغة كرام المستخدمة في الدراسة.

واشارت نتائج المعالجة بالبايوسين في الفئران المخمجة بالزائفة الزنجارية نمط (4 :0) الى خفض معدل الوفيات عند بدء المعالجة بالبايوسين في الساعة الاولى من الاصابة وهلكت الحيوانات جميعا في حالة البدء في العلاج في اليوم التالي من الاصابة.

وكانت الجرعة المميتة الوسطية للبايوسين المنقى والخام في الفئران تساوي 351 مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم و241 مايكروغرام/ كغم من وزن الجسم، على التوالي.

لقد اظهرت الدراسة الفعالية السمية للبايوسين في الزجاج باستخدام خطوط الخلايا السرطانية (خط سرطان ظهارة الحنجرة البشري (Hep-2)، وخط سرطان ظهارة الغدة اللبنية الفأرية (AMN3) والخط الخلوي الطبيعي لجنين الجرذ (REF)) الى ان تأثير البايوسين السمي يعتمد على نوع الخلايا ونوع البايوسين المستخدم، ومقدار الجرعة ووقت التعريض، اذ ان اعلى مستوى للسمية للخطوط الخلوية كافة وجدت بعد 72 ساعة. وكانت خلايا AMN3 هي الاكثر حساسية من بين الانواع الاخرى ثم تبعتها Hep-2 وفي حين كانت خلايا REF الاكثر مقاومة.

لقد دلت نتائج استعمال المضاد البروتيني (البايوسين) بكونها مادة ضد السرطان بعد اعطاء جرع مختلفة من البايوسين لفئران تم غرسها بخلايا سرطان الظهارة للغدة اللبنية الفأري ان كل من البايوسين الخام والمنقى تمتلك تأثيرا مثبطا لنمو خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأرية (AMN3) عند استعمال تركيزين مختلفتين وبكلتا طريقتي الحقن (المباشر داخل الورم والتجويف البريتوني). وتباينت نسبة تثبيط نمو الورم تبعا لموضع الحقن والجرعة ومدة العلاج. بقيت الحيوانات المعالجة على قيد الحياة مدة اطول (30 يوم) بالمقارنة مع مجموعات السيطرة (15-20) يوم.

اظهر التركيز 24 مايكروغرام/ كغم التأثير الاعلى سمية في تلك الخلايا حيث تناقصت نسبة حجم الورم معنويا لكلا موضعي الحقن (داخل تجويف البريتون من 96.2- 28.96، داخل الورم: 91.56- 34.32) بنسبة تثبيط نمو 98.69، و99.28 على التوالي. فضلا عن ذلك اظهر الفحص

النسيجي للاورام المعالجة وجود مناطق نخرة كبيرة مع قلة عدد الخلايا السرطانية، فضلا عن ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية مع وجود طبقة سميكة من النسيج الليفي.

وبينت النتائج عدم امتلاك المضاد البروتيني قيد الدراسة تأثيرا سميا مطفرا في المادة الوراثية (DNA) للخلايا اللمفاوية المنقسمة للانسان. وقد اعتمد تأثير البايوسين في معامل الانقسام الخيطي MI ومعامل التحويل الارومي BI معامل التضاعف RI ودورة توالي الخلسة CCP على التركيز المستخدم، اذ امتلكت التراكيز المرتفعة تأثيراً سمياً مثبطاً بتلك المعاملات اما معدل التبادل الشقيق التلقائي (SCE) فقد اختزل بشكل معنوي مقارنة بالسيطرة السالبة، في حين رفعت التراكيز الواطئة للبايوسين من كفاءة الخلايا في التحول والانقسام بوجود المادة المشطرة (PHA).

حفز البايوسين قيد الدراسة لاسيما المنقى منه فعالية الخلايا المناعية، فقد ازدادت كفاءة الخلايا البلعمية في التهام الخميرة المقتولة وحفز من قدراتها على انتاج ايون السوبر اوكساید (O_2^-). رفع المضاد البروتيني من قدرة الخلايا التائية والبائية على تكوين التشكيل الزهري وبتراكيز معينة.

انتاج انزيم L-asparaginase (L- asparagines amidohydrolase) من بكتريا *Erwinia carotovora* MM-3 وتنقيته واستخدامه في تثبيط الخلايا السرطانية (خارج الجسم الحي)

محمد قيس عبد مصطفى؛ محمد عمر محيي الدين؛ ناهي يوسف ياسين

الهدف: استهدفت هذه الدراسة التحري عن عزلات محلية من البكتريا لها القدرة على انتاج انزيم L-asparaginase وغربلتها للحصول على العزلة ذات الكفاءة العالية في انتاج الانزيم ومن ثم تحديد الظروف المثلى للانتاج و العمل على انتاج الانزيم،بعدها تضمنت الدراسه تنقيه الانزيم ودراسه حركياته والعوامل المؤثره في فعاليته، ومن ثم اجريت دراسه وراثيه للعزله المنتخبه ذات الانتاجيه العاليه للانزيم ومحاوله تحسين الانتاج بطرائق وراثيه وطرق التطفير الفيزيائيه،كما شملت هذه الدراسه استخدام الانزيم المنقى جزئيا في تجربه تثبيط الخلايا السرطانيه التى شملت خلايا الكبد السرطانيه و الخلايا البلازميه.

طرائق العمل: تضمنت عدة محاور:

- المحور الاول :خطوات العزل والتشخيص والغربله للعزلات البكتيريه المنتجه لانزيم L-asparaginase .
- المحور الثاني: خطوات العوامل المؤثرة في انتاج انزيم L-asparaginase .
- امحورل الثالث: خطوات تنقيه وتوصيف انزيم L-asparaginase.
- المحور الرابع: خطوات الدراسة الوراثية والتطفير.
- المحور الخامس: خطوات تثبيط الخلايا السرطانية بالانزيم المنقى (التجربة البايولوجية).

النتائج:

- المحور الاول: العزل والتشخيص والغربلة للعزلات البكتيرية المنتجة لانزيم L-asparaginase

تم الحصول على 288 عزلة بكتيرية تعود للاجناس *E.coli*، *Enterobacter*، *Pseudomonas*، *Azomonas*، *Azotobacter*، *Rhizobium* و*Erwinia*. امتازت 160 عزلة منها بانها قادرة على انتاج انزيم L-asparaginase اي بنسبة قدرها55.5%.

كانت جميع عزلات *E.coli*، *Enterobacter* و*Erwinia* قادرة على انتاج الانزيم (بنسبة 100%)، بينما كانت جميع عزلات *Azotobacter* غير منتجة للانزيم وتفاوتت عزلات *Azotobacter* و*Rhizobium* في قدرتها على انتاج الانزيم (غربلة اولية- مرحلة اولى).

تفوقت خمس عزلات من بكتريا *Erwinia* في قدرتها على انتاج الانزيم ثم تلاها عزلات *E.coli* و *Enterobacte* بالدرجة الثانية وذلك استنادا الى طريقة قطر الانتاج في اطباق الاسبرجين الصلب (غربلة اولية- مرحلة ثانية).

تفوقت العزلة المحلية MM3 قابليتها على الانتاج الانزيم بطريقة الكمية (طريقة الاندوفينول) اذ سجل المستخلص الانزيمي الخام لهذه العزلة فعالية انزيمية قدرها 3.52 وحدة/ مل.

اختيرت العزلة MM3 وشخصت على مستوى النوع فتبين انها تعود للنوع *Erwinia carotovora* التي تسبب مرض التعفن الطري في البطاطا واعتبرت هذه العزلة هي الاكفأ في انتاج الانزيم L-asparaginase واستخدمت لاكمال الدراسات اللاحقة.

- المحور الثاني: استخلص الانزيم ودرست العوامل المؤثرة في انتاجه.

ان افضل طريقة لاستخلاص الانزيم L-asparaginase من العزلة MM3 كانت باستخدام طريقة المعاملة بالقاعدة NaOH بتركيز 1 عياري وكانت الفعالية الانزيمية 0.72 وحدة/ مل، واتبعت هذة الطريقة لاستخلاص الانزيم في كافة مراحل الدراسة.

سجلت اعلى انتاجية انزيمية باستخدام الكلوكوز مصدرا للكاربون والهستدين مصدرا للنيتروجين وقد بلغت الفعالية الانزيمية لانزيم L-asparaginase 2.97 و1.25 وحدة/ مل على الترتيب وعند استخدام وسط الهستدين- الكلوكوز فقد اعطى فعالية بلغت 4.00 وحدة/ مل وقد استخدم هذا الوسط في كافة مراحل الانتاج.

ان الرقم الهيدروجيني الابتدائي الامثل لوسط انتاج L-asparaginase هو المتعادل 7.00 وان درجه الحراره المثلى لانتاج الانزيم كانت 30ْم وبلغت الفعاليه الانزيميه 0.34 و 2.10 وحدة/مل على الترتيب.

سجلت اعلى انتاجيه انزيميه عند استخدام الحاضنه الهزازة بسرعه 200 دورة/ دقيقه وبلغت الفعاليه االانزيميه 2.14 وحدة/مل ،تبينه ان جميع الاملاح المعدنيه المضافه الى وسط انزيم L-asparaginase سببه تثبيط فعاليه الانزيم وكانت اعلى فعاليه عند ستخدام ملح سترات الصوديوم بتركيز 5% بلغت 5.81 وحدة/مل.

سجلت اعلى انتاجيه انزيميه عند استخدام حجم لقاح قدره 1% وبلغت الفعاليه الانزيمية 4.46 وحدة/مل وقد احتوى كل 1 مل من القاح على 105 X2 خليه،وسجلت اعلى فعاليه انزيميه غند فترت حضن بلغت 18 ساعه ثم انخفضت عند مدة حضن 24 ساعه وبلغت 5.8 و 1.9 وحدة/مل على الترتيب.

- المحور الثالث: تنقية وتوصيف الانزيم L-asparaginase

تم تنقية انزيم L-asparaginase المنتج من العزلة المحلية *Erwinia carotovora* MM3 ونستخلص بطريقة المعاملة بالقاعدة NaOH وبتركيز 1 عباري بستخدام عدة خطوات شملت التركيز بكبريتات الامونيوم فبلغت الحصيلة الانزيمية وعدد مرات التنقية للانزيم 44.00% و 1.46 مرة على التوالي، ثم اجريت عملية الفصل بالتبادل الايوني باستخدام المبادل الايوني السالب DEAE-Ssphacyl فكانت الحصيلة الانزيمية وعدد مرات التنقية 42.57%و 3.05 مرة على التوالي،ثم اخضع الانزيم للفصل بطريقة الترشيح الهلامي باستخدام هلام Sephacryl-S300 فتبين وجود قمتين لفعالية الانزيم رمز للقمة الاولى بـ ER1 و كانت الحصيلة الانزيمية وعدد مرات التنقية لهذا الجزء 21.6% و3.36 مرة على التوالي. ورمز للقمة الثانية ERII وكانت الحصيلة الانزيمية وعدد مرات التنقية لهذا الجزء 32.17% و5.03 مرة على التوالي، بعدها اخضع كل جزء على حدة لعملية الفصل بالترشيح الهلامي باستخدام نفس الهلام فكانت الحصيلة الانزيمية وعدد مرات التنقية للجزء الاول ERI 18.30% و7.92 مرة على التوالي، بينما كانت الحصيلة الانزيمية وعدد مرات التنقية للجزء الثانيERII 29.19% و12.50 مرة على التوالي.

تم اختبار نقاوة الانزيمين ER1 وERII باستخدام الترحيل الكهربائي على هلام متعدد اكريلامايد (7.5%) PAGE بغياب المادة الماسخة للبروتينات SDS فتبين ان الانزيم على درجة جيدة من النقاوة اذ تبين احتواء الانزيم ER1 على حزمة واحدة بينما احتوى الانزيم ERII على ثلاث حزم.

اظهرت نتائج توصيف الانزيمين ان الوزن الجزيئي للانزيمين والمقدر بطريقتي الترشيح الهلامي والترحيل الكهربائي على هلام متعدد اكريلامايد بوجود المادة الماسخة للبروتين SDS ان هناك فرق في الوزن الجزيئي للانزيمين وحسب الطريقة المستخدمة، فبلغ الوزن الجزيئي للانزيمين ER1 وERII قيمة قدرها 39800 و10200 دالتون على التوالي عند تقديره بطريقة الترشيح الهلامي، بينما بلغ الوزن الجزيئي للانزيمين ER1 وERII قيمة قدرها 45700 و16600 دالتون على التوالي عند تقديره بطريقة الترحيل الكهربائي على هلام متعدد اكريلامايد PAGE-SDS.

تم تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية الانزيمين ER1 وERII فبلغت 30ْم لكلا الانزيمين، كما قدرت طاقة التنشيط لكلا الانزيمين فبلغت قيمتها 13.5 X 103 و10.9 X 103 سعرة/ مول على التوالي، كما تم تحديد طاقة التنشيط لمسخ الانزيمين ER1 وERII فبلغت قيمتها 4.6 X 103 و9.4 X 103 سعرة/ مول على التوال، كما تم تعيين الرقم الهيدروجيني الامثل للفعالية والثبات لكلا الانزيمين ER1 وERII فكان الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية كلا الانزيمين هو 7.0 ، وتبين ان الانزيمER1 يحتفظ بكامل فعاليته عند معاملته بالرقم الهيدروجيني 7.0 مدة 60

دقيقة بينما لوحظ ان الانزيمERII لم يحتفظ بكامل فعاليته الا مدة 30 دقيقة عند حضنه عند نفس الرقم الهيدروجيني.

اظهرت نتائج تحديد الثوابت الحركية للانزيمين ان قيمة ميكائيلس Km المقدرة بطريقة Michalis-Menten plot للانزيم ER1 بلغت 6 X 103 مولاري، وللانزيم ERII فبلغت 3 X 103 مولاري. اما قيم السرع القصوى Vmax للانزيمين فبلغت للانزيم ER1 3.2 مولاري/ دقيقة وللانزيم ERII فبلغت 6.1 مولاري/ دقيقة.

درس تأثير بعض المواد والكواشف في فعالية الانزيمين فتبين ان كلا الانزيمين يقاومان التراكيز الملحية للأملاح NaCL وKCl ولحد التركيز 0.2% اذ احتفضا بكامل فعاليتهما عند هذا التركيز ثم انخفضت الفعالية قليلا عند التركيز 0.5%، كما تبين ان فعالية الانزيمين تتناسب عكسيا مع تركيز كل من mercaptoethanol -2 وEDTA اذ لوحظ ان فعالية الانزيمين تنخفض بزيادة تركيز هاتين المادتين ولم يظهر اي تأثير في فعالية الانزيمين عند استخدام هاتين المادتين بتركيز 0.01%.

- المحور الرابع: تطوير كفاءة العزلة *Erwinia carotovora* MM3 في انتاج انزيم L-asparaginase بالاقتران والتطفير.

اظهرت نتائج الترحيل الكهربائي للـ DNA الكلي على هلام الاكاروز 1% للعزلة المحلية MM3 والبكتريا القياسية E.coli HB101 تشابه المحتوى الوراثي للعزلتين اذ احتوى كل منهما على بلازميد كبير الحجم وكروموسوم وبلازميدين.

اظهرت نتائج اقصاء البلازميدات من العزلتين المذكورتين بطريقة المعاملة بتراكيز متدرجة من حامض السالسليك ان صفة انتاج انزيم L-asparaginase محمولة على بلازميد او انها تتأثر بالبلازميد وقد تم التأكد من حدوث عملة الاقصاء باجراء عملية الترحيل الكهربائي للـ DNA الكلي للعزلتين الخاضعتين للاقصاء.

اجريت عمليتي الاقتران البكتيري لمحاولة نقل صفة انتاج انزيم L-asparaginase من العزلة المحلية MM3 الى البكتريا القياسية *E.coli* HB101 وقد نجحت عمليتي الاقتران البكتيري وتم التأكد من ذلك بأجراء الترحيل الكهربائي للمحتوى الوراثي للعزلتين القياسية والمحلية اضافة الى العزلتين المقترنتين Conj.1 وConj.2 على هلام الاكاروز 1%، وتم اجراء عملية التقدير الكمي لانتاج الانزيم L-asparaginase من العزلات المقترنة فلوحظ ان جميع العزلات المقترنة كانت منتجة للانزيم.

اظهرت نتائج تشعيع العزلات بالاشعة فوق البنفسجية بطول موجي قدره 270 نانوميتر الحصول على العزلة الطافرة MM3M التي امتازت بكفاءتها في انتاج انزيم L-asparaginase وبلغ قطر الانتاج 25 ملم والفعالية النوعية للانزيم المنتج 6.42 وحدة/ ملغم، بينما كانت الفعالية النوعية للانزيم المنتج من العزلة المحلية MM3 تساوي 37.: وحدة/ ملغم.

اظهرت نتائج تشعيع العزلة المحلية MM3 بمنظومة الليزر هليوم-نيون عدم قدرة هذه الاشعة على احداث الطفرات المطلوبة ولم يتم التوصل الى مستوى التحسين المطلوب اذ بلغت الفعالية

النوعية للانزيم الناتج من عالق الخلايا المشعة 3.46 وحدة/ ملغم وهي مساوي تقريبا للفعالية النوعية للانزيم المنتج من العزلة المحلية MM3 البالغة 3.50 وحدة/ ملغم.

- المحور الخامس: استخدام انزيم L-asparaginase في تثبيط الخلايا السرطانية.

استخدمت خلايا ورمية بنوعين شملت Hepatocarcinoma و S.U. Plasmocytoma لتحديد قدرة الانزيمين ER1 وERII على تثبيط الخلايا السرطانية بطريقة ELISA، وتبين امتلاك كلا الانزيمين قدرة جيدة على تثبيط الخلايا المستخدمة.

تبين تفوق الانزيم ER1 على نظيره ERII في تثبيط خلايا Hepatocarcinoma وخلايا S.U. Plasmocytoma. وتبين ان استخدام الانزيمين بدون تخفيف يعطي فعالية تثبيطية جيدة تجاه الخلايا المستخدمة مقارنة بمستويات تخفيف متباينة.

تأثير الغذاء الملكي و العكبر على بعض الخلايا الورمية في الزجاج والحي

خالد مهدي صالح؛ بدر محمد العزاوي؛ ناهي يوسف ياسين

يقوم نحل العسل بتصنيع منتجات اخرى غير العسل كالغذاء الملكي والعكبر (غراء النحل) ذات الفعاليات الحيوية المتعددة، حيث يمكنها أن تلعب دوراً كمواد مضادة للجراثيم، والأكسدة والألتهابات وكذلك كمواد مضادة للاورام.

في هذه الدراسة تم اختبار تأثير مستخلصات الغذاء الملكي والعكبر على ثلآثة خطوط خلوية اثنان منها سرطانية (خط خلايا سرطانة الحنجرة Hep-2، و خط خلايا سرطانة الغدد اللبنية الفأري AMN-3) و الثالث خط خلايا طبيعية (الخلايا المولدة للألياف لجنين الجرذ Ref)، بالاضافة الى الخلايا اللمفاوية البشرية، وذلك باستخدام تقنيات فحص السمية Cytotoxicity assay. كما تم دراسة تأثيرالغذاء الملكي والعكبر على الفئران الحاملة لورم سرطانة الغدد اللبنية الفأري AM3، وعلى الفئرآن السليمة لغرض تحديد مدى فعالية هذه المنتجات كمواد سامة أو مضادة للالتهابات أو منظمة للمناعة ومضادة للاورام داخل الحي.

أشارت النتائج المستحصلة من هذه الدراسة الى أنّ تعريض الخلايا للغذاء الملكي لمدة 24 ساعة ادى الى تثبيط قدرة التصاق خلايا خط Hep-2 بمقدار58.6%، بينما كانت قدرة تثبيط العكبر على التصاق خلايا خط AMN-3، Hep-2 هي 23.7% و 48.9% على التوالي.

ان القدرة التضاعفية لخلايا خطوط Ref، AMN-3 و Hep-2 انخفضت بمقدار 26.4%، 25.6% و 56.5% على التوالي بعد 48 ساعة من التعريض للغذاء الملكي، في حين انخفضت هذه القدرة في خلايا خط AMN-3 و Hep-2 بمقدار 63% و 66.7% على التوالي بعد التعريض للعكبر.

أدى تعريض خطوط الخلايا للغذاء الملكي و لمدة 48 ساعة الى زيادة معنوية في المحتوى البروتيني لافرازات خلايا خط Ref بلغت حوالي 120.2%، و انخفاض معنوي في افرازات خلايا خط Hep-2 و AMN-3 بمقدار 58.3% و 95.9% على التوالي. أما المعاملة بالعكبر فقد تسببت

في انخفاض المحتوى البروتيني لافرازات خلايا خط AMN-3 فقط وبمقدار 79.1% بينما حصلت زيادة واضحة في كل من خطي Ref و Hep-2 وبمقدار 84.7% و 94.6% على التوالي.

أبدى كل من الغذاء الملكي و العكبر قدرة عالية على حث الموت المبرمج في خطوط الخلايا الورمية، حيث كانت نسبة الموت المبرمج في خط خلايا Hep-2 96.3% و 100% على التوالي، بينما بلغت هذه النسبة في خط خلايا AMN-3 79.3% و 88.3% على التوالي و ذلك بعد 36 ساعة من التعريض.

ادى تعريض مزرعة خلايا الأنسان اللمفاوية للغذاء الملكي او العكبر و لمدة 72 ساعة الى انخفاض حاد في المحتوى البروتيني لافرازات هذه الخلايا من 69±7.7 الى 12± 1.73 و 11.3±1.86 مايكروغرام/مل على التوالي، في حين ان تعريضها لمدة 72 ساعة ادى الى انخفاض معامل انقسام هذه الخلايا من 3.5±0.36 (للمجموعة الضابطة) الى 2±0.09 (للخلايا المعاملة بالغذاء الملكي) و 1.9±0.06 (للخلايا المعاملة بالعكبر).

اظهرت هذه المنتجات اختلافاً في قيمة الجرعة المميتة لنصف الفئران السليمة LD50 بعد 24 ساعة من حقنها داخل البريتون، حيث بلغ مقدار هذه الجرعة 6210 ملغم/كغم بالنسبة الى الغذاء الملكي و 1690 ملغم/كغم بالنسبة الى العكبر.

من جهة اخرى لم يظهر التجريع المتعدد داخل بريتون الفئران السليمة بواقع جرعة واحدة كل يومين (500 ملغم/كغم للغذاء الملكي و 800 ملغم/كغم للعكبر) و لمدة 28 يوماً أي تأثيراً سمياً على الفئران المعاملة سواءاً من حيث وزن الجسم، معامل انقسام خلايا نخاع العظم او المظاهرالنسيجية لبعض الاعضاء الداخلية كالكبد و الطحال و الكلية و لا حتى على مستوى IL-2 في مصول الفئران المعاملة، ما عدا حالة الانخفاض الحاد في مستوى IFN-γ من 275.4±77.02 الى 76.5±32.96 و 64.4±21.64 بيكوغرام/مل بعد المعاملة بكل من الغذاء الملكي او العكبر على التوالي.

أبدت هذه المنتجات قدرة عالية على تثبيط الالتهاب المزمن (المستحث بعد حقن قدم الفئران السليمة بمادة الفورمالين)، و ذلك بعد تجريعها بكل من الغذاء الملكي (500ملغم/كغم) او العكبر (800 ملغم/كغم) و بواقع جرعة واحدة داخل البريتون يومياً و لمدة ستة ايام. أدى التجريع بالغذاء الملكي الى تثبيط الالتهاب بنسبة 61.1% بينما سبب التجريع بالعكبر تثبيطاً مقداره 77.8%.

أعطى كل من الغذاء الملكي و العكبر تأثيراً علاجياً في الفئران الحاملة للورم بعد تجريعها بنفس الاسلوب المتبع مع الفئران السليمة، حيث استعادت الفئران وزنها الطبيعي مع نسبة اختزال واضحة في حجم الورم (53.3% ، 80.8% ،على التوالي)، و كذلك وزن الورم.(67.3% ، 80% ، على التوالي). بينما لم يكن هنلك تأثيراً واضحاً على معامل انقسام خلايا نخاع العظم و مستوى IFN-γ في مصول الفئران المعاملة، باستثناء حالة الزيادة الطفيفة في مستوى IL-2 من 17.8±3.76 الى 40±2.54 بيكوغرام/مل في مصول الفئران المعاملة بالعكبر.

تشيرالنتائج المستحصلة من هذه الدراسة بشكل واضح الى امتلاك كل من الغذاء الملكي والعكبر خصائص مضادة للخلايا الورمية سواءاً في الزجاج او داخل الحي، وقدرة عالية على تثبيط الالتهاب بالاضافة الى التنظيم المناعي الطفيف.

دراسة دور عديد السكريد المستخلص من محفظة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* المعزولة محلياً في تثبيط الخلايا السرطانية داخل وخارج الجسم الحي

محمد احمد درويش؛ رشيد محجوب مصلح؛ ناهي يوسف ياسين

إن التقدم الحاصل في العلوم المايكروبية وعلاقتها بالسرطان والجهود المبذولة للقضاء على هذا المرض الخطير دون التأثير في الخلايا الطبيعية علاجات محتملة للتخلص من هذه الخلايا الخبيثة حدا بالباحثين في هذا المضمار الى التطلع لعلاجات متطورة. ويهدف هذا الجهد العلمي دراسة دور المحفظة وعديد السكريد المحفظي (Capsular Polysaccharides) لبكتريا *Klebsiella pneumoniae* في تثبيط الخلايا السرطانية داخل الجسم الحي *in vivo* وفي المختبر *in vitro*.

لتحقيق أهداف هذه الدراسة تم أولاً عزل بكتريا الكلبسيلا الرئوية من حالات مرضية شملت التهاب المجاري البولية، والتهاب القصبات التنفسية في المستشفيات ثم شخصت بكتريا *K.pneumoniae* إعتماداً على الفحوصات الكيموحيوية، فضلا عن إستخدام نظام API 20. E-System، وتم الحصول على 10 عزلات نقية من هذه البكتريا. بعدها تم استخلاص عديد السكريد المحفظي (CPS) من بكتريا الكلبسيلا الرئوية وقياس كمية الكاربوهيدرات في المستخلص، وكانت نسبة عديد السكريد (Polysaccharides) في المحفظة تساوي 10,088 مايكروغرام/مليلتر. استخدم هذا المستخلص فيما يلي:

أولاً: دراسة التاثير العلاجي للمستخلص في الخلايا السرطانية التي تمثلت بسرطانة الغدة اللبنية المغروسة في الفئران (AM-3)، أستعملت ثلاثة تراكيز علاجية لهذه التجربة كانت 5000، 7,500، 10,000 مايكروغرام/مليلتر. وذلك عن طريق الحقن داخل التجويف البريتوني I.P لمدة 23 يوما متتالية، سببت هذه التراكيز تثبيطا في نمو الورم السرطاني داخل الجسم الحي، وسجل التركيز 5000 مايكروغرام/مليلتر أعلى نسبة تثبيط في معدل حجم الورم (244,7مليلتر^3). فيما أعطت باقي التراكيز نسباً أقل في تثبيط الورم السرطاني(516,7 مليلتر^3، 406,7 مليلتر^3) على التوالي.

أستخدمت تجربة علاجية ثانية ضد هذا النوع نفسه من الخلايا السرطانية لمدة 13 يوما متتالية استعملت فيها تركيزين علاجيين ثم حقنت الفئران داخل التجويف البريتوني بالتركيز 10,000 مايكروغرام/مليلتر لمدة 5 أيام، ومن ثم حقنت بالتركيز 5000 مايكروغرام/مليلتر لمدة 8 أيام، وأعطت هذه التجربة نسبة تثبيط لمعدل حجم الورم السرطاني بمقدار 89.61%.

فضلاً عن ذلك أظهر الفحص النسيجي للأورام المعالجة وجود مناطق تنخر وخراج كبيرة مع انخفاض في حجم وعدد الخلايا السرطانية مع إرتشاح هائل من الخلايا الإلتهابية وخلايا متعددة الأنوية (Polymorphonuclear cells) (PMNs) وخلايا أحادية النواة Monocytes وتنشيط للخلايا المناعية.

ثانياً: دراسة التأثير السمي للمستخلص في الخلايا الطبيعية داخل الجسم الحي وذلك باستخدام الفئران البيضاء، وشملت هذه الدراسة ما يلي:

أ - تحديد الجرعة المميتة الوسطية LD_{50} ودراسة التأثيرات المرضية الخارجية في الحيوان.

ب - دراسة التأثيرات السمية المرضية النسيجية في أعضاء الحيوان المعامل شملت (الكبد، والطحال، والكلية، والرئة).فقد بينت الدراسة النسيجية المرضية عدم سمية المستخلص CPS وذلك بعد حقن المستخلص بالتراكيز 5000، 7,500، 10,000 مايكروغرام/مليلتر داخل التجويف البريتوني لمدة 24 ساعة، ولم تظهر أي تاثيرات مرضية نسيجية في الأعضاء كافة باستثناء إحتقان خفيف في جدران الحويصلات الهوائية في الرئة مع إحتقان في الأوعية الدموية للكبد وذلك بعد استمرار الحقن لمدة 7 أيام، فيما لم تظهر أي تغيرات نسيجية على الكلية والطحال.

ثالثاً: دراسة التأثير السمي الوراثي الخلوي في الخلايا اللمفاوية المنقسمة، وتضمنت هذه الدراسة التأثير في معامل الإنقسام الخيطي (MI)، ومعامل التحول الأرومي (BI)، وقد سبب المستخلص (CPS) إنخفاضا في معامل الإنقسام الخيطي عند التراكيز المستخدمة كافة 1000، 2000، 4000، 8000 مايكروغرام/مليلتر. وقد كانت هناك علاقة تناسب عكسي بين ارتفاع تركيز CPS مع معامل الإنقسام الخيطي فيما سجل إرتفاعاً في معامل التحول الأرومي بشكل ضئيل قياساً مع عينة السيطرة للتراكيز المستعملة كافة.

رابعاً: دراسة التأثير السمي لمستخلص (CPS) في خطوط الخلايا السرطانية المدروسة كل من خط خلايا الحنجرة البشري (HeP-2)، وخط خلايا الجرذ الجنينية مولدة الألياف الطبيعي (Ref-3). استخدم في هذه الدراسة ستة تراكيز من مستخلص (CPS) وهي: 500، 1000، 2000، 4000، 6000، 8000 مايكروغرام/مليلتر. أظهر المستخلص زيادة في نمو الخلايا عند استعمال التراكيز الواطئة في اليوم الأول للتعريض لكلا الخطين، فيما انخفضت نسبة نموها بتأثير التراكيز العالية، وسجلت التراكيز كافة نسب تثبيط للخلايا السرطانية في اليوم الثاني والثالث للتعريض وهذا يعتمد على مدة التعرض وكمية التركيزبالنسبة للمستخلص، كانت أعلى نسبة تثبيط لخط (HeP-2) هي (85.2%) عند زمن التعريض 72 ساعة. فيما سجلت نسبة تثبيط أعلى في خط خلايا (Ref-3) بنسبة (87.5%) بعد مرور72 ساعة.

تأثير المستخلصين المائي والكحولي الخام للعرهون *Agaricus bisporus* على بعض الخلايا السرطانية في الزجاج و الحي

وفاء فوزي ابراهيم؛ هناء حنين منكلو؛ ناهي يوسف ياسين

صمم هذا البحث لدراسة التأثيرات السمية الخلوية للمستخلصين المائي والكحولي الخام للعرهون *Agaricus bisporus* في الزجاج *in vitro* وفي الحي *in vivo* في أثنين من الخطوط الخلوية

السرطانية، هما خط خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) وخط خلايا سرطان الغدة اللبنية الفأري (AMN3) ، وأظهرت النتائج ان التأثير السمي لكلا المستخلصين الخام اعتمد على التركيز المستخدم ومدة التعريض وذلك باستخدام خمسة تراكيز لكل منهما وهي (312.5 ، 625 ، 1250 ، 2500 ، 5000) مكغم/مل، كان للمستخلص المائي الخام تأثيراً معنوياً باحتمالية ($P\leq0.01$) على خط خلايا (Hep-2) بعد 72 ساعة من تعريضها بالتراكيز المستخدمة وكانت أعلى نسبة تثبيط نمو عند التركيز (5000) مكغم/مل حيث بلغت 34.20%، وبلغت نسبة تثبيط النمو الأعلى في خط خلايا (Hep-2) للمستخلص الكحولي 60.27% ، وكانت نسبة تثبيط هذين المستخلصين الخام لخط خلايا (AMN3) ولنفس التركيز المذكور انفا 48.57% و 50% على الترتيب بعد مدة حضن 24 ساعة. في حين أوضحت نتائج تأثير المستخلصين الخام عند التركيز الاعلى (5000) مكغم/مل وجود فروق معنوية باحتمالية ($P\leq0.01$) في عدد الخلايا التي عانت موتاً خلوياً مبرمجاً لكل من خلايا (Hep-2) بنسبة 46.44، 25.33% على التوالي و (AMN3) كانت النسبة 62.00، 46.01% على التوالي بالمقارنة مع السيطرة 18.01 ،11.45 % على التوالي.

وبينت نتائج المعاملة بالمستخلصين الخام انخفاضاً معنوياً باحتمالية ($P\leq0.01$) ولجميع التراكيز المستخدمة وهي (62.5 ، 125 ، 250 ، 1000 ، 2000) مكغم/مل في معامل الانقسام الخيطي Mitotic Index (MI) ومعامل التحول الآرومي Blast Index (BI) للخلايا اللمفية للدم البشري ، في حين تبين أن كلا المستخلصين لم ينجحا بالعمل كعوامل مشطرة بديلا عن المادة المشطرة Phytohemagglutinin (PHA) ، حيث انخفضت معدلات معامل (MI) و (BI) عند المعاملة بالمستخلص المائي الخام الى (1.45،30.33) % على التوالي والمستخلص الكحولي الخام الى (0.86 ،26.79) % بالمقارنة مع السيطرة (3.91،57.48) % على التوالي.

وتضمنت الدراسة ايضاً دراسة التاثيرات السمية للمستخلصين الخام في الحي التي شملت التاثيرات السمية الحادة والتي من خلالها حددت الجرعة المميتة الوسطية (LD50) في الفئران وهي 2842.73 ملغم/كغم و 9248.33 ملغم/كغم للمستخلصين المائي والكحولي الخام على الترتيب . في حين كانت نتائج التأثيرات السمية المزمنة باستخدام الجرع (333.3 ، 500 ، 666.6) ملغم/كغم و(500 ، 1000 ، 1500) ملغم/كغم للمستخلصين المائي والكحولي الخام على التوالي داخل الخلب (IP) لمدة 30 يوما وبواقع جرعة واحدة كل 48 ساعة كالاتي:

أظهرت نتائج التأثيرات السمية للمستخلصين الخام على خلايا نقي العظم في الفئران، التي تضمنت تأثيرها في معامل الانقسام الخيطي (MI) ومعامل التحول الآرومي (BI)، ارتفاعاً معنوياً ($P\leq0.01$) في (MI) عند المعاملة بالمستخلص المائي الخام، في حين لم تظهر النتائج فرقاً معنوياً عند المعاملة بالمستخلص الكحولي الخام، سببت المعاملة بالمستخلصين الخام ارتفاعاً معنوياً واضحاً في معامل التحول الآرومي (BI) أعتمد على الجرعة. في حين لم تظهر النتائج أي تأثير معنوي في وزن الجسم للفئران المعاملة.

وبينت النتائج ايضا وجود فروق معنوية باحتمالية ($P\leq0.01$) في مستوى IFN-γ في المصل ولجميع الجرع المستخدمة. كما اظهرت الدراسة النسيجية المرضية أن المستخلصين الخام لايمتلكان تأثيراً سمياً في الكبد والكلية والطحال عند المعاملة بالجرع الثلاثة لكل منهما حيث أظهر الفحص

ارتشاحاً للخلايا الالتهابية في الأنسجة المأخوذة. في حين لم تظهر المعاملة بالمستخلصين الخام فروقا معنوية في عملية البلعمة بالمقارنة مع السيطرة.

أعطت نتائج التأثير العلاجي للمستخلصين الخام في الفئران المغروسة بسرطانة الغدة اللبنية الفأري (AM-3) باستعمال جرع علاجية ثلاثة هي (333.3 ، 500 ، 666.6) ملغم /كغم للمستخلص المائي والجرع (500 ، 1000 ، 1500) ملغم/كغم للمستخلص الكحولي وذلك عن طريق الحقن داخل الخلب Intra-Peritoneum (IP) لمدة 30 يوماً بواقع جرعة واحدة كل 48 ساعة فعالية علاجية في اختزال حجم الورم بشكل يعتمد على الجرعة المستخدمة منها. كانت الجرعة العلاجية للمستخلص المائي (666.6) ملغم/كغم هي الأفضل تأثيراً من خلال تثبيطها لحجم الورم بنسبة بلغت 87.10% . أما المستخلص الكحولي فكانت الجرعة العلاجية الأفضل هي (500) ملغم/كغم بنسبة تثبيط لحجم الورم بلغت 87.93%. أن مقارنة حجم الورم النسبي لمختلف المجاميع العلاجية يوضح الفروق المعنوية الكبيرة بين هذه المجاميع ومجموعة السيطرة . كما أظهرت نتائج المعاملة بالمستخلصين الخام زيادة معدل الخلايا التي عانت موتاً خلوياً مبرمجاً في الحي *in vivo* كانت هذه الزيادة معنوية باحتمالية ($P\leq0.01$).

أوضحت نتائج التأثيرات السمية للمستخلصين الخام لجميع الجرع المستخدمة ارتفاعاً معنوياً ($P\leq0.01$) في وزن الجسم للفئران الحاملة لسرطانة الغدة اللبنية الفأري وفي مستوى الانترفيرون كاما IFN-γ.

بينت نتائج المعاملة بالمستخلص المائي والكحولي الخام للفئران الحاملة للورم وجود انخفاض معنوي ($P \leq 0.01$) في معامل الانقسام الخيطي (MI) ومعامل التحول الآرومي (BI) لخلايا نقي العظم بالمقارنة مع السيطرة. بيّن الفحص النسيجي لورم سرطانة الغدة اللبنية الفأري والمعالج بالمستخلصين الخام ولجميع الجرع المستخدمة وجود نسيج ليفي يحيط ببقايا الورم مرتشح بعدد هائل من الخلايا الالتهابية مع ظهور تنخر واسع داخل الورم. في حين اوضحت نتائج فحص الكيمياء النسيجية المناعية لكتلة الورم زيادة في معدل الخلايا التي عانت موتا خلويا مبرمجا وكانت هذه الزيادة معنوية باحتمالية ($P\leq0.01$). وقد أوضح الفحص النسيجي للأعضاء (الكبد، الكلية، الطحال) للفئران المغروسة بالورم والمعاملة بالمستخلصين الخام عدم وجود خلايا منبثة لتلك الاعضاء ووجود ارتشاح للخلايا الالتهابية في الكبد والكلية، في حين أظهر الطحال تنسجا في خلاياه وتوسعا في اللب الأبيض مع وجود الخلايا المولدة للصفيحات الدموية ووجود صبغة الهيموسدرين.

دراسة تأثير حامض التكويك الجداري (WTA) المستخلص من بكتيريا *E. faecalis* في الخلايا الطبيعية وبعض الخطوط الخلوية السرطانية

شهلاء علي حسن؛ هيفاء هادي حساني؛ ناهي يوسف ياسين

تم جمع 20 عزلة لبكتيريا *Enterococcus faecalis* من 150 عينة سريرية (أدرار، خروج، مسحات جلد) وشُخصت هذه الحالات باستخدام الفحوصات الزرعية والكيموحيوية، وتم تأكيد التشخيص باستخدام نظام API 20 Strep واختبار Lancefield.

فُحصت مقاومة عزلات *E. faecalis* للمضادات الحيوية، وأظهرت بعض العزلات مقاومتها لـ9 مضادات من أصل 16 مضاداً أُستخدم في هذه الدراسة، كما سجلت العزلات جميعها مقاومة عالية (100%) للمضاد Streptomycin، وبلغت مقاومتها لمضاد Tobramycin 90%، بينما كانت العزلات جميعها حساسة للمضادات: Gentamycin، Chloranphemicol، Penicillin G وAmpicillin وVancomycin وRefampcin وCo-tramoxazole.

أُستخلص حامض التكويك الجداري (WTA) من بكتيريا *E. faecalis* SHJs1، المعزولة من طفل صغير التي تميزت بمقاومتها العالية للعديد من المضادات الحيوية المدروسة، بطريقة TCA 5%، ثم نُقي جزئياً بوساطة كروماتوگرافيا الترشيح الهلامي بأستخدام هلام Sepharose CL-6B، وأمتدت قمة الـ WTA من الجزء (8-18)، وبلغ تركيز الفسفور 91.37 مايكرومول/مليليتر، أما تركيز البروتين فكان 0.022 ملغرام/مليليتر.

دُرس تأثير مستخلص WTA الخام وراثياً في الخلايا اللمفاوية للإنسان بإستخدام بعض الفحوصات مثل معامل الإنقسام الخيطي MI ومعامل التحول الأرومي BI وفُحصت كروموسومات الخلايا المعاملة. وُجد أن هذا المستخلص سبب انخفاضاً معنوياً في معدلات معامل الإنقسام الخيطي MI وإرتفاعاً بسيطاً في معامل التحول الأرومي BI، لكنه لم يُحدث أي تغيرات عددية في كروموسومات الخلايا اللمفاوية المُعاملة.

كما دُرس التأثير السمي الخلوي لمستخلص WTA الخام والمُنقى جزئياً في بعض الخطوط الخلوية السرطانية والطبيعية. وأظهر المستخلص الخام والمُنقى جزئياً خصوصاً عند التركيز 5000 مايكروغرام/مليليتر فعالية تثبيطية عالية في الخلايا السرطانية Hep-2 وAMN-3 بمدة تعريضية 24 ساعة. ثم بدأت هذه النسب بالإنخفاض مع إزدياد مدة التعريض وعلى العكس من ذلك سجلت التراكيز الواطئة من المستخلصين كليهما تحفيزاً للخلايا على التضاعف والإنقسام عند 24 ساعة من التعريض، وأختفى هذا التحفيز عند زيادة مدة التعريض للخطين لكيهما Hep-2 وAMN-3. وأبدى المستخلصان كلاهما (الخام والمُنقى جزئياً) تأثيراً تثبيطياً بسيطاً في خط الخلايا الطبيعي Ref.

كما نجح مستخلص WTA الخام في تثبيط معدل الأنقسامات الخيطية للخلايا السرطانية AMN-3 وكانت كفايته عالية في إيقاف الإنقسام الخيطي للخلايا التابعة للخط الخلوي Hep-2 حيث تمكن من إيقاف نموها وتضاعفها وبالتالي موتها.

التأثيرات الوراثية الخلوية وموت الخلايا المبرمج للسيرمايد في الخلايا السرطانية: داخل الجسم الحي وخارجه

مثنى ابراهيم ملك؛ هيفاء حساني؛ ناهي يوسف ياسين

تهدف الدراسة الى تقييم الفعالية التثبيطية للسيرمايد في الخلايا السرطانية واختبار السمية الخلوية للسيرمايد في الخطوط الخلوية السرطانية وفي الحيوانات المختبرية فضلا عن التحري عن دوره في عملية الموت المبرمج للخلايا.

عزل السيرمايد من دماغ والحبل الشوكي للبقر ومن ثم استخلصت باستعمال المذيبات العضوية، ونقي المستخلص الخام باستخدام عمود حامض السيليسك وتم الحصول على جزء نقي اصفر اللون. ووصف المستخلص النقي باستخدام ثلاث اختبارات: الفحص المرئي ومقياس الطيف الضوئي والاشعة تحت الحمراء، وقد اعطى الاختبار الاول منتوج ازرق بعد رشه بمادة البنزيدين اما الاختبار الثاني فقد اعطى قمة واحدة عند طول موجي 326 نانوميتر وبأمتصاصية 1.481 بينما الاختبار الثالث اضهر عدة قمم امتصاصية التي مثلت المجاميع الوظيفية للسيرمايد. درس التأثير السمي الخلوي لتراكيز مختلفة من السيرمايد المنقى (7، 15، 30، 60 مايكرومول) على الخطوط الخلوية السرطانية Hep-2، RD، AMN3 وAMGM5 واظهر السيرمايد بتركيز 30 مايكرومول فعالية تثبيطية مؤثرة في جميع الخطوط الخلوية السرطانية وخصوصا الخط الخلوي AMGM5 .

وشملت هذه الدراسة فحص الحرعة المؤثرة للسيرمايد(30 مايكرومول) في انقسام الخلايا اللمفية للانسان، ولوحظت قابليتة في خفض معامل الانقسلم الخلوي والتقليل من حث الخلايا على الانقسام والتضاعف، كما اتضح عدم امتلاكه سمية وراثية حيث لم تتأثر الكروموسومات لا عددياً ولا تركيبياً.

استخدمت BioGen ™ Kit لاختبار قابلية السيرمايد في احداث الموت المبرمج لخطوط الخلايا السرطانية Hep-2، AMN3 و AMGM5 وقد نجح هذا المستخلص في حث الخلايا السرطانية على الموت المبرمج بسبب تأثيره على السلسلة التنفسية في المايتوكوندريا.

وكذلك شملت الدراسة فحص قايلية السيرمايد في تثبيط الورم في الفئران المحقونة بالخلايا السرطانية AMN3 وتمكن هذا المستخلص بتركيز 250 ملغم/ كغم من تقليص حجم الورم في الفئران المسرطنة، علاوة على ذلك فقد تم اجراء مقارنة في التغيرات النسيجية في الفئران المصابة بسرطان الغدة اللبنية المحقونة بمستخلص السيرمايد وغير المعاملة. وقد تميزتالمجموعة المعاملة بمستخلص السيرمايد بتقلص كتلة الورم مع مساحة كبيرة من التنخر وعند دراسة بعض الاعضاء ظهرت النبيبات الكلوية بحالة طبيعية ولوحظ تنكس في الاوعية الدموية وزيادة في عدد الخلايا الامية للصفائح الدموية في الطحال في حين ظهرت صفات التسرطن في مجموعة الفئران غير المعاملة.

تأثير الذيفانات المعوية لبكتريا ETEC *Escherichia coli* في الخلايا السرطانية، والخطوط الخلوية وفي حيوانات التجارب

الهام سعيد عبد الكريم؛ رشيد محجوب المصلح؛ ناهي يوسف ياسين

هدفت الدراسة للتحري عن التأثير السمي للذيفانات المعوية الخام في الخلايا الطبيعية والسرطانية داخل وخارج الجسم الحي، تضمنت هذة الدراسة عزل بكتريا Escherichia coli الممرضة وتشخيصها من عينات سريرية براز اطفال مصابين بالاسهال الحاد دون سن الثالثة وللجنسين كلاهما، وللمدة الممتدة من شهر آذار ولغاية حزيران 2005 من مستشفيات الاطفال في بغداد وفقا للاتي:

- تم الحصول على (66) عزلة من مجموع (110) عينة سريرية وبنسبة مئوية قدرت 60%، اعتمادا على الاختبارات المظهرية والكيموحيوية، فضلا عن استخدام نظام API 20E-system.
- اجري التنميط المصلي لجميع عزلات E. coli المشخصة (66) عزلة واظهرت النتائج ان (12 عزلة) اي بنسبة 18% تابعة لمجموعة الممرضات المعوية Group Enterpathogenic PECE.
- اظهر اختبار الفأر الرضيع Suckling Mouse Assay (SMA) لجميع العزلات المشخصة (66)، (13 عزلة) اي بنسبة 19.6% منتجة للذيفان المعوي الثابت بالحرارة (ST) Heat-stable اي انها من المجموعة المنتجة للذيفات المعوية (Group Enterotoxigenic E.coli)، علما ان عزلات مجموعة Enterophogenic E.coli كانت جميعها سالبة لهذا الاختبار، وهذا مايؤكد عدم انتاجيتها للذيفان المعوي. واعتمادا على الفعالية السمية المقدرة بطريقة (SMA)، حددت بموجبها العزلة (99) الأكفأ في انتاج الذيفان المعوي (ST)، كما اظهرت العزلة (99) للبكتريا قدرتها على انتاج الذيفان المعوي غير الثابت بالحرارة (LT)، باختبار العقد اللفائفية للارنب كما اختبرت حساسية العزلة (99) لانواع مختلفة من المضادات الحيوية، وقد ابدت العزلة حساسيتها للمضادات Ampicillin، Gentamicin، Nalidixic acid وNitrofurantionK، الانها كانت مقاومة لـ Amoxicillin، Cefixime، Cephalothin، Ciprofloxacin وTrimethoprim.

اظهرت العزلة (99) قابليتها على الالتصاق باستخدام الوسط الغذائي الخاص والحاوي على صبغة احمر الكونغو، وكذلك بطريقة التلازن الدموي لامتلاكها عاملي الاستيطان CFA\I، CFA\III، كما اظهرت عدم قدرتها على افراز انزيم الهيمولايسين المحلل لخلايا الدم الحمر.

اظهرت نتائج دراسة تأثير بعض العوامل الفيزياوية والكيمياوية في فعالية الذيفان المعوي الخام والناتج من العزلة (99) وباختبار SMA، بأن الذيفان المعوي يحتفظ بكامل فعاليته عند الدرجات الحرارية (20، 40، 60 و80) درجة مئوية لكنه يتأثر قليلا عند 100درجة لمدة نصف ساعة، كما يحتفظ بفعاليته بدرجة 4 درجة لمدة (24-48) ساعة، وتؤكد هذه النتائج ان الذيفان من النوع الثابت بالحرارة، وعند دراسة الرقم الهيدروجيني الامثل، وجد ان الفعالية السمية القصوى تكون عند الرقم

(8.5-8) الا ان الفعالية السمية تنخفض بشدة عند الرقم الهيدروجيني (5 و9.5)، اما زمن استجابة الفئران الرضيعة للذيفان المعوي فقد حدد زمن 90 دقيقة كأقصى زمن للاستجابة و180 دقيقة الزمن الامثل للاستجابة.

تم تنقية الذيفان المعوي جزئيا باستخدام هلام Sepharose CL-6B بطريقة كروموتوكرافيا الترشيح الهلامي وباستخدام نفس نوع الهلام وباستخدام البروتينات القياسية، قدر الوزن الجزيئي للذيفان المعوي بـ (17378) دالتون.

حددت الجرعة المميتة لـ 50% من الفئران LD50 لكل من العالق البكتيري والذيفانات المعوية الخام، ووجد انها تساوي (108×2.31) خلية\فأر و(48.75) ملغرام\فأر على التوالي، وشملت الدراسة التأثيرات النسيجية الناتجة من العالق البكتيري والذيفات المعوي الخام في انسجة اعضاء الفئران المختبرية مثل الرئة، الطحال، الامعاء الدقيقة، الكبد والكلية، واظهرت الذيفانات المعوية الخام تأثير اشد من تأثير العالق البكتيري في الطحال والامعاء والرئة، اما العالق البكتيري فكانت تأثيراته شديدة في الكبد.

استخدمت الذيفانات المعوية الخام لعلاج اورام سرطانة الغذة اللبنية المغروسة في الفئران، ووجد ان التركيز (390) ملغم/ كغم له فعالية في تقليل حجم الورم عند حقنة مباشرة في الورم بنسبة تثبيط (83-89)% ابتدأ في اليوم الثامن حتى انتهاء فترة الحقن. اما عند حقن الذيفانات داخل الخلب، فكانت نسبة التثبيط للورم اقل من الحقن في الورم. واظهرت الجرعة (97.5)% ملغم\كغم المعطاة يوميا داخل الخلب ولمدة 25 يوم كفاءة في تثبيط الورم بنسبة 73.3% كما بينت المقارنة بين حجم الورم النسبي للمجاميع المعالجة وحجم الورم النسبي لمجاميع السيطرة وجود فروقات مهمة احصائيا وطيلة فترة العلاج.

لقد كان التنخر والتليف هما السمتان البارزتان في المجاميع المعالجة بعد اجراء الفحص النسيجي المرضي، حيث زاد ظهورهما مع تقدم العلاج وبشكل مرتبط مع صغر حجم الورم، اذ لوحظ ان في المراحل الاخيرة من العلاج تظهر الخلايا السرطانية موجودة بشكل جزر صغيرة محصورة في نسيج ليفي كثيف. وادت المعالجة بجميع تراكيز الذيفانات المستخدمة وبنوعي طريقتي احقن في خلايا نخاع عظام الفئران الى زيادة معنوية بمعامل التحول الارومي ومعامل الانقسام الخيطي مقارنة بالسيطرة التي استخدم فيها دارئ الفوسفات الملحي.

تمت دراسة التأثيرات السمية للمستخلص في خطوط الخلايا السرطانية Hep-2، AMN3 والخط الطبيعي REF، وتوصلت الدراسة ان التأثير يعتند على نوع الخلايا ، مقدار الجرعة ووقت التعريض. اذ وجد ان خلايا AMN3 اكثر حساسية من خلايا Hep-2 وثبطت التراكيز المرتفعة من نمو الخلايا السرطانية وبالاخص عند التركيز (60000) مايكروغرام/ مليلتر. ووجد ان التركيزين (30000 و60000) مايكروغرام/ مليلتر محفزان لنمو وتكاثر خلايا REF، الا ان التركيز (1875 و3750) مايكروغرام/مليلتر كانت مثبطة للخلايا REF.

درست تأثيرات الذيفان المعوي الثابت بالحرارة المنقي جزئيا في خطوط الخلايا السرطانية Hep-2، AMN3 والخط الطبيعي REF، فكان تأثيرة مثبط لخلايا Hep-2، AMN3 عند زمن

التعرض (72) ساعة، وكان له تركسز محفز لنمو الخلايا خلال زمن التعرض (24) ساعة بجميع تراكيزه، الا ان التأثير اختلف في زمن التعرض (48) ساعة حيث اظهرت التراكيز الثلاثة الاولى (15.86، 158.6 و1586) مايكروغرام/مليلتر فأظهرت تثبيطا لخلايا AMN3، الا انها اظهرت تأثيرا مثبطا لخلايا REF خلال زمن التعرض (48 و72) ساعة، وتأثيرا محفزا للنمو خلال زمن التعرض (24) ساعة.

درست التأثيرات الذيفانية لمستخلص الذيفانات الخام في الخلايا اللمفية المنقسمة للانسان خارج الجسم الحي، واظهرت التراكيز العالية تأثيرا مثبطا لمعامل الانقسام الاانها زادت من كفاءة الخلايا في التحول بوجود المادة المشطرة، ولذلك حصل زيلدة بمعامل (BI) مقارنة بالسيطرة.