إسم الباحث	لينا عبدالفتاح بشير كردي
عنوان البحث	دراسات على الدور الوقائي لألبان الإبل ضد السمية الخلوية والخلوية الوراثية والوراثية لعقار السيسبلاتين في الفئران البيضاء . Studies on Protective Role of Camel Milk Against the Cytotoxic , Cytogenotoxic and Genotoxic Effects of Cisplatin In Albino . Mice
نوع البحث (ماجستير / دكتوراة)	دكتوراة
سنة البحث	٢٣ / ١١ /١٤٢٦هـ
لغة البحث	اللغة العربية
المشرفين	أ.د عبلة شرف ، د. سلوى قيطة
جهة الحصول على الدرجة العلمية	كلية التربية للبنات بجدة.
المستخلص عربي	إنَّ مُعظم العقاقير المُضادة للسرطان " المُضادة لنُموِّ الأورامِ " قد صُممت أساسًا بحيثُ يُمكنها التداخل مع : تصنيع الحمض النَّووي الريبوزيّ المنقوص الأكسجين (DNA) ، الأيضِ الخلويِّ وانقسامِ الخلية . ولقد أُثبتت السُّميَّة الوراثيَّة لهذه العقاقير المُضادة للسرطان ولنُموّ الأورام في العديد من أنظمة الاختبارات المعمليَّة.حيث أنَّ الغالبية العُظمى من هذه العقاقير تُعتبر عالية السُّميَّة خلويًّا ، كما أنَّ العديد منها يُعتبر مُطفرًا ومُسرطنًا . ولعلَّ قُدرةَ الإطفارِ العالية لهذه العقاقير هو الذي يجعلها مُثيرةً للقلق عند استخدامها في العلاج الكيميائيِّ ضِدَّ السرطان ؛ وذلك رُبما كونِها هي المسؤولة عن تكوين الأورام الثانويَّة التي لُوحظت في بعض المرضى الذين عُولجوا بهذه العقاقير . ومن أجلِ ذلك فقد استخدمت هذه العقاقير المُضادة للسرطان كعواملَ مُطفرةٍ . وحيث أنَّ عقار السيسبلاتين هو أحد العقاقير المُضادة للسرطان والذي يُستخدم بكثرةٍ كعاملٍ مُضادٍّ لنُموّ الأورام ، وقد تمَّ إثبات قُدرته المُطفرة والمُسرطنة ، لذا فإنَّه قد استخدمَ أساسًا في هذه الدراسة كمصدرٍ مُطفرٍ . وفي السَّنواتِ الأخيرةِ كانت هُناك العديد من الجُهود الجديرة بالاعتبار والتي ألقت الضَّوء على أهميةِ اسْتخدامِ العوامل المُضادة للإطفار ، للحدِّ من التأثيرات السَّامة وراثيًّا لمثل تلك

العقاقير المُطفرة والمُضادة لنُموّ الأورام ، ومن أجلِ ذلك بُذلت الكثير من المُحاولاتِ للبحثِ عن عوامل طبيعيَّةٍ (خاصةً في الغذاء) ، والتي تكون قادرةً على حثِّ آليات الدفاع داخل جسم الكائن الحيّ .

وبناءً على ماسبق فإنَّ الهدف الرئيس من هذه الدراسة هو تقييم الدَّور الوقائيّ المُحتمل والمُضاد للإطفار لعاملٍ غذائيٍّ ذي مصدرٍ طبيعيٍّ ، ألا وهو لبنُ الإبل ضِدَّ السُّمية الخلويَّة ، الخلويَّة الوراثيَّة والوراثيَّة لعقارٍ واسع الاستخدام ضِدَّ نُموّ الأورام وهو عقار السيسبلاتين ، وذلك في الخلايا الجسميَّة والجرثوميَّة لذُكور الفئران كنموذجٍ داخل جسم الكائن الحيّ . وقد استُخدمَ لهذا الغرضِ ذُكورُ الفئرانِ من سُلالة MFI كحيواناتِ تجاربَ، حيث تمَّت مُعاملتها مُعاملةً تحت حادة بالجُرعة العلاجية (٢٠ مجم/كجم) من عقار السيسبلاتين يوميًا داخل تجويفها البريتونيّ مُدَّة خمسة أيامٍ مُتتالية أو مُعاملةً حادة بالجُرعة العلاجية (١٠٠ مجم/كجم) من العقار. وقد تمَّ تشريح الحيوانات في كلا المُعاملتين بعد ٢٤ ساعةً من آخرِ مُعاملةٍ .

كما تمَّ تطبيقُ مسلكينِ منَ التجاربِ :

المسلكِ الأولِ : قياس مُعدل الانقسام الخلويّ غير المُباشر (الميتوزيّ) ،

تكوين الأنوية الدقيقة واستحداث العوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة عن طريق المُعاملة تحت الحادة أو الحادة بالجُرعات العلاجية (٢٠ مجم / كجم ، ١٠٠ مجم / كجم) من العقار على التوالي ، وتحديد تأثير المُعاملة تحت الحادة من ألبان الإبل وبجُرعةٍ مقدارها (٣٣ مل /كجم) .

المسلكِ الثاني : قياس التأثير الوقائيّ للمُعاملات تحت الحادة المُزدوجة المُسبقة أو المُتزامنة لألبان الإبل .

ولتحقيق ذلك قُسمت ذُكور فئرانِ التجارب إلى سبعِ فئاتٍ رئيسةٍ كالتالي :

- الفئةِ (أ) : شملت الذكور التي عُوملت بالماء المقطَّر مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الفم وعن طريق الحقن البريتوني يوميًّا ولمُدة خمسةِ أيامٍ مُتتالية واعتبرت العينةُ الضابطةُ للتجارب.
- الفئةِ (ب): شملت الذكور التي عُوملت مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الفم بالجُرعةِ (٣٣ مل / كجم من وزن الجسم) من اللبن يوميًّا ولمُدة خمسةِ أيامٍ مُتتالية .
- الفئةِ (ج): شملت الذكور التي عُوملت مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الحقن البريتوني بالجُرعةِ العلاجيةِ (٢٠ مجم / كجم من وزن الجسم) من عقارِ السيسبلاتين يوميًّا ولمُدة خمسةِ أيامٍ مُتتالية .
- الفئةِ (د): شملت الذكور التي عُوملت مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الفم بالجُرعةِ (٣٣ مل / كجم من وزن الجسم) من اللبن مُسبقًا بساعتين

ثُم مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الحقن البريتوني بالجُرعةِ العلاجيةِ (٢٠ مجم/كجم من وزن الجسم) من عقارِ السيسبلاتين يوميًّا ولمُدة خمسةِ أيامٍ مُتتالية .

- الفئةِ (هـ): شملت الذُكور التي عُوملت مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الفم بالجُرعةِ (٣٣ مل/ كجم من وزن الجسم) من اللبن ومُتزامنةً مع المُعاملةِ تحتَ الحادةِ عن طريق الحقن البريتوني بالجُرعةِ العلاجيةِ (٢٠ مجم / كجم من وزن الجسم) من عقار السيسبلاتين يوميًّا ولمُدة خمسةِ أيامٍ مُتتالية .
- الفئةِ (و): شملت الذُكور التي عُوملت مُعاملةً حادةً عن طريق الحقن البريتوني بالجُرعةِ العلاجيةِ (١٠٠مجم / كجم من وزن الجسم) من عقار السيسبلاتين .
- الفئةِ (ي): شملت الذُكور التي عُوملت مُسبقًا مُعاملةً تحتَ حادةٍ عن طريق الفم بالجُرعةِ (٣٣ مل / كجم من وزن الجسم) من اللبن يوميًّا ولمُدة خمسةِ أيامٍ مُتتالية ثُم مُعاملةً حادةً بالجُرعةِ العلاجيةِ (١٠٠ مجم/كجم من وزن الجسم) من عقار السيسبلاتين وذلك في اليَّوم الخامس فقط .

وتُشير نتائجُ هذه الدراسة إلى أنَّ مُعدلَ الانقسامِ الخلويِّ غيرِ المُباشرِ(الميتوزيِّ) ، مُعدلَ تكوينِ الأنويةِ واستحداثِ العواملِ الوراثيَّةِ المُميتةِ السائدةِ في فئات ذُكور المُعاملة بألبان الإبل لم تُظهر أيَّة فُروقٍ معنويَّةٍ مُقارنة بذُكور فئران العينة الضابطة .

بينما أظهرت الدراسةُ أنَّ المُعاملةَ تحتَ الحادةِ أو الحادةَ بالجُرعات العلاجية (٢٠ مجم/كجم ، ١٠٠ مجم/كجم) من عقار السيسبلاتين قد أحدثت تثبيطًا فائق المعنويَّة في نشاط الانقسام الخلويّ غير المُباشر (الميتوزيّ) في خلايا نُخاع العظم .

أمَّا المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة المُسبقة ثُم المُعاملة تحت الحادة أو الحادة بالجُرعة العلاجية (٢٠ مجم/كجم،١٠٠ مجم/كجم) من العقار وكذلك المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة المُتزامنة باللبن مع المُعاملة تحت الحادة بالجُرعة العلاجية (٢٠ مجم/كجم) من عقار السيسبلاتين قد أحدثت ارتفاعًا وبدرجةٍ فائقة المعنويَّة في النشاط الميتوزيّ لخلايا نُخاع العظم (عند مُقارنتها بذُكورِ فئرانِ المُعاملةِ تحتَ الحادةِ أو الحادةِ بالجُرعةِ العلاجيةِ من عقار السيسبلاتين بمُفرده) والذي قد ثُبط نتيجة المُعاملة بالعقار المُضاد لنُموّ الأورام .

وفي حين أنَّ المُعاملة تحت الحادة أو الحادة بكلا الجُرعتين العلاجيتين من عقار السيسبلاتين قد أنتجت زيادة فائقة المعنويَّة في عدد الأنوية الدقيقة في خلايا الدَّم الحمراء مُتعددة الاصطباغ في نُخاع العظم ، فإنَّ تناول ألبان الإبل عن طريق الفم ؛ قد قلَّلَ من التأثير الكاسر للكُروموسومات (تكوين الأنوية الدقيقة) والذي أحدثته المُعاملة بعقار السيسبلاتين ؛ وقد كان هذا الانخفاض فائق المعنويَّة نتيجة المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة المُسبقة بألبان الإبل ثُم المُعاملة تحت الحادة بالجُرعة العلاجية(٢٠ مجم/كجم) أو المُعاملة الحادة بالجُرعة العلاجية (١٠٠ مجم/كجم) من عقار السيسبلاتين ، بينما كانت هذا الانخفاض عالي المعنويَّة نتيجة المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة المُتزامنة من

اللبن مع المُعاملة تحت الحادة بالجُرعة العلاجية (٢٠ مجم/كجم) من عقار السيسبلاتين .

وأظهرت النتائجُ المُتحصَّلُ عليها من خلال اختبار العوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة بعد تحليلها أنَّ أعلى نِسبةً للعوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة المُستحدثة نتيجة المُعاملة تحت الحادة بالجُرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين قد تمَّ الحُصول عليها في الأسبوع الأول ، الثاني والخامس . وهذا يدلُّ على أنَّ أكثر المراحل الخلويَّة تأثرًا وحساسيةً بالعقار كانت مرحلة الحيوانات المنويَّة الناضجة ، الطلائع المنويَّة المُتأخرة والخلايا المنويَّة الأوليَّة على التوالي .

أمَّا أعلى قيمةً للعوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة المُستحدثة نتيجة المُعاملة الحادة بالجُرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين فقد ظهرت في الأسبوع الثاني والثالث ، وبهذا فإنَّ مرحلتي الطلائع المنويَّة المُتأخرة والمُبكرة على التوالي هي أكثر المراحل الخلويَّة حساسيةً وتأثرًا بهذه المُعاملة من العقار .

بينما أحدثت المُعاملات تحت الحادة المُزدوجة المُسبقة أو المُتزامنة باللبن والمُعاملة تحت الحادة بالجُرعة العلاجية من العقار انخفاضًا ملحوظًا في قيم العوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة المُستحدثة ، والتي ظهرت جليَّةً خلال المراحل الخلويَّة الأكثر تأثرًا نتيجة المُعاملة تحت الحادة بالجُرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين والتي تمثلت في مرحلة الحيوانات المنويَّة الناضجة ، الطلائع المنويَّة المُتأخرة والخلايا المنويَّة الأوليَّة . كما يُلاحظ من النتائج المُتحصل عليها أيضًا ، أنَّ المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة والمُسبقة باللبن ثُم العقار كانت أكثر استجابةً في خفض نسبة العوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة المُستحدثة عن المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة والمُتزامنة باللبن والعقار خلال مُعظم الأسابيع قيد الاختبار .

كما أظهرت المُعاملة تحت الحادة المُزدوجة والمُسبقة باللبن ثُم المُعاملة الحادة بالجُرعة العلاجية من العقار استجابةً وانخفاضًا ملحوظًا في قيم العوامل الوراثيَّة المُميتة السائدة المُستحدثة خلال الأسبوع الثاني والثالث والتي مثلتها مرحلتيْ الطلائع المنويَّة المُتأخرة والمُبكرة والتي كانت من أكثر المراحل الخلويَّة حساسيةً وتأثرًا نتيجة المُعاملة الحادة بالجُرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين.

ومن نتائج الدراسة الحاليَّة تتَّضح مدى أهمية استخدام الاختبارات قصيرة المدى والخَاصة بقياس الدَّورِ الوقائيِّ (المُضادِ للإطفار) لمادةٍ ما ضِدَّ التأثير السَّام خلويًّا ووراثيًّا للمُركبات الكيميائيَّة بما فيها العقاقير المُضادة لنُموّ الأورام السرطانيَّة.وأنَّ تناولَ ألبانِ الإبل مُسبقًا أو مُتزامنًا مع المُعاملة بعقار السيسبلاتين قد أحدثت تأثيراتٍ إيجابيَّةٍ ضِدَّ التأثيرات السَّامة خلويًّا والسَّامة وراثيًّا الناجمة عن المُعاملة بالعقار في كلا نوعيْ الخلايا قيد الدراسة . وقد أُعزيَ التأثير الوقائيّ لألبان الإبل ، لقُدرة وقابلية بعض مكوناته مثل : الفيتامينات والمعادن على التقاط الجُذور الحُرة (ملحوظة : وذلك لأنَّ عقار السيسبلاتين عندما يتحلل مائيًّا في المحاليل المُتجانسة يُطلق العديد من مجموعات الهيدروكسيل النشطة) المعروفة بقُدرتها التدميريَّة للخلايا.

وبناءً على النتائج المُتحصل عليها فإنَّ الدراسة توصَّلت إلى أنَّ المُعاملة بألبان الإبل من المُمكن أنْ تحدَّ من التأثيرات السَّامة خلويًّا وراثيًّا والناجمة عن المُعاملة بالجُرعة العلاجية من عقار السيسبلاتين ، إضافةً إلى أنَّ ألبان الإبل أيضًا قد حسَّنت وبشكلٍ ملحوظٍ من النشاط الميتوزي لخلايا نُخاع العظم والذي قد تُبط نتيجة المُعاملة بعقار السيسبلاتين .

The majority of anticancer "antineoplastic" drugs are especially designed to interfere with DNA synthesis , cellular metabolism and cell division . Genotoxicity of anticancer "antineoplastic" drugs has been established in several experimental test system .The majority of these drugs are extremely cytotoxic and many of them are mutagenic and carcinogenic . The high mutagenic potency of these drugs raises the concern that its use in cancer chemotherapy may be responsible for secondary malignancies which have been observed in some cured patients treated with these drugs . Therefore , anticancer drugs are used as mutagens . Cisplatin is widely used antineoplastic agent,the mutagenic and carcinogenic potentials of this agent were established and the drug was used in this study essentially as a reference mutagen . During recent years , considerable effort have been focused on using antimutagens to modulate the genotoxic effects of the mutagenic antineoplastic drugs . Therefore , much attention has been paid to the research of naturally occurring agents (especially in diet) that are able to stimulate defense mechanisms of the organism. Therefore, the aim of the present study is to evaluate the possible protective (antimutagenic) role of Camel milk against the cytotoxic , cytogenotoxic and genotoxic effects of a widely used antineoplastic drug "cisplatin " in somatic and gametic cells of male mice in vivo. Male MFI mice were used as the experimental animals . Cisplatin was injected sub-acutely (20 mg /kg) in daily intrapertoneally (i.p.) doses over a five day peroid and acutely (100 mg /kg) in a single i.p. injection , sacrifiting the animals 24hr both after sub-acute and acute treatments \. Two types of experiments were carried out, the first to check the rate of mitotic index , micronuclei formation and dominant lethal induction by sub-acute and acute treatments of medical doses (20 mg /kg) and (100 mg /kg) respectively and to determine the effect of the sub-acute treatment of (33 ml /kg) of camel milk . The second type of experiments was to check the protective effect of pre & simultaneous sub-acute treatments of camel milk (33 ml /kg) The experimental animals were divided into seven categories as follows : (A) includes 10 male mice orally and intrapertoneally (i.p.) sub-acutely treated with distilled water in daily doses over a five day period and considered as a control group. (B) includes 10 male mice orally sub-acutely treated with camel milk ٣٣) ml/kg) in daily doses over a five day period.	المستخلص انجليزي

(C) includes 10 male mice (i.p.) sub-acutely treated with the therapeutic dose ٢٠) mg /kg) of cisplatin in daily doses over a five day period. (D) includes 10 male mice orally pre-sub-acutely treated with the camel milk and followed by (i.p.) sub-acutely treated with the therapeutic dose ٢٠) mg /kg) of cisplatin in daily doses over a five day period. (E) includes 10 male mice orally simultaneously sub-acutely treated with camel milk and (i.p.) treated with the therapeutic dose (20 mg /kg) of cisplatin in daily doses over a five day period. (F) includes 10 male mice(i.p.) acutely treated with the therapeutic dose ١٠٠) mg /kg) of cisplatin. (G) includes 10 male mice orally pre-sub-acutely treated with camel milk in daily doses over a five day period and followed by (i.p.) acute treatment with the therapeutic dose (100 mg /kg) of cisplatin in the fifth day. The results showed that the frequencies of mitotic index (MI) , micronuclei (MN) and dominant lethality (DL) in camel milk treated mice were not significantly different from those of control mice. The study showed that the treatment with therapeutic doses (20 mg /kg & 100 mg /kg) of cisplatin resulted in highly significant inhibition of the mitotic activity (MI) of bone marrow cells. On the other hand all treatments with camel milk, Either pre-subacuely treatment with both sub-acute and acute treatments of the therapeutic doses (20 mg /kg & 100 mg /kg) of cisplatin respectively or simultaneous sub-cutely treatment with (20 mg /kg) dose of cisplatin , caused a very highly significant enhancement in bone marrow activity (when compared with mice received the therapeutic doses of cisplatin alone) that had been suprresed by the antineoplastic drug. Sub-acutely and acutely treatments with the two therapeutic doses of cisplatin resulted in a very highly increased in the number of micronuclei in polychromatid erythrocytes in bone marrow cells .On the other hand, the oral administration of camel milk were found to be effective in reducing the clastogenic effect (micronuclei) induced by cisplatin . This reduction was very highly significant as a result of pre-sub-	

acutely treatment with camel milk either followed by sub-acute treatment with (20 mg /kg) or acute treatment with (100 mg /kg) of cisplatin , whereas it was highly significant as a result of simultaneous treatment of milk and the therapeutic dose (20 mg /kg) of cisplatin.

The analysis of data obtained from the dominant lethal assay revealed that the drug was highly effective in inducing dominant lethality after sub-acute treatment with (20mg /kg) of cisplatin, especially in the first, second and fifth weeks . This implies that the spermatozoa , late spermatid and primary spermatocytes respectively were the most sensitive and highly affected stages by this treatment , while the most sensitive and highly affected stages were the early and late spermatids i.e. the highly dominant lethal value was observed in the second and third weeks.

On the other hand , pre & simultaneous sub-acutely treatments with camel milk and sub-acutely treatment with (20 mg /kg) of cisplatin registered a noticeable decrease in the dominant lethal values in the same stages affected by cisplatin treatment only . It is obviously that the pre-sub-acutely treatment with camel milk and followed by (20 mg /kg) of the drug was the more effective treatment in reducing the dominant lethal values than the simultaneous sub-acutely treatment observed in the majority of examined weeks . Also the sub-acute treatment with camel milk and followed by acute treatment with (100 mg /kg) showed a noticeable decrease in the dominant lethal values in the same stages affected by acute treatment with cisplatin only i.e. the early and late spermatides.

The present study shows the importance of using short-term tests for evaluating the potential antimutagenic effect of certain compound against the cytotoxic and genotoxic effects of chemical compound including the antineoplastic drugs . camel milk administration prior or at the same time to cisplatin were found to be effective in reducing cytotoxic and genotoxic effects in induced by this drug in both cell types studied.This protective effect of camel milk could be attributed to the scavening ability to trap free redicals of some of its components like vitamins and minerals (N.B. cisplatin upon hydrolysis in aqueous solution forms various reactive hydroxyl species) which are known as cells damaging agents .

The findings , therefore , suggest that camel milk may reduce the cytotoxic & genotoxic effects inducing during therapy with cisplatin . Additionally , caml milk also markedly restored the bone marrow cell mitosis, which had been suppressed by this drug.

.