

## تأثير الاكريلاميد في معامل انقسام الخلايا الجسمية في الفار الابيض

وجدان ثامر مهدي

كلية العلوم / جامعة القادسية

### الخلاصة

يعتبر الاكريلاميد من المواد المسرطنة للانسان والحيوان . تناولت الدراسة تأثير الاكريلاميد بتركيز 50 و100 ملغم /كغم من وزن الجسم عند حقنه في الفار الابيض على معامل انقسام الخلايا الجسمية . واطهرت نتائج الدراسة وجود تأثير معنوي على مستوى (P,0.01) للتراكيز والجرع على معامل الانقسام واتضح من خلال النتائج ان معامل انقسام الخلايا الجسمية (خلايا نقي العظام) قد ارتفع بزيادة التركيز .

### المقدمة

يعتبر الاكريلاميد مادة مسرطنة (IARC,1986) . ويتكون بالطعام من تداخل الحامض الاميني الاسبارجين مع الكلوكوز ويوجد في الغذاء الغني بالكربوهيدرات وخاصة البطاطا . (IARC,1987) . ويسبب في الانسان تسمم عصبي (Neurotoxicity, 2002, Stadler) . ان الصيغة الكيميائية للاكريلاميد

O

هي

$C_5H_8O_2$  وله درجة غليان  $99.44^{\circ}C$  ودرجة انصهار  $-71.2^{\circ}C$  (Lide,1995) . تم انتاج الاكريلاميد لأول مرة في الولايات المتحدة سنة 1993 ويدخل في صناعات عديدة منها تعليب الطعام وغسل وتنظيف الفواكه وصبغ الجلوتين (USITC,1994) .

اشار (Potter and Tran, 1992) الى ان الاكريلاميد يتحد تلقائياً مع مجاميع glutathione و Protein sulfhydryl في العديد من الانسجة وخاصة الكبد .

اشارت الدراسات الى ان المعاملة بالاكريلاميد في خلايا اللبائن تؤدي الى استحداث طفرات وكذلك حدوث شذوذ كروموسومي (Mc Gregor et al 1988) (Moor et al ,1988) (Moor et al ,1991) .

### المواد وطرق العمل

تم في الدراسة استخدام الاكريلاميد بتركيزي (50 و100) ملغم /كغم من وزن الجسم (Ghanayem et al , 1986 b) . تم استخدام الفار الابيض من سلالة balb-c تراوحت اعمارها بين (7-9) اسابيع ومعدل اوزانها 25gm . استخدم في التجربة (36) حيوان لكل تركيز (12) فار باربع جرع وبمعدل جرعة واحدة في اليوم بقيمة (0.1) مل وبواقع (3) فأر للجرعة الواحدة . (12) فأر عوملت بالماء المقطر (مجموعة السيطرة) ثم شرحت الفئران بعد مرور اسبوع من الحقن وتم تحضير المحاليل المستخدمة في الدراسة باتباع طريقة (Hunger ford ,1965) .

دراسة تأثير جرع مختلفة من الاكريلاميد على معامل انقسام الخلايا الجسمية (خلايا نقي العظم) :- قبل قتل الحيوانات لغرض التشريح يتم حقن الحيوانات بـ (0.25) سم<sup>3</sup> من الكولجسين (لزيادة فترة الانقسام) بتركيز 10 ملغم / كغم من وزن الجسم عن طريق غشاء الخلب وبعد ثلاث ساعات يتم قتل الحيوانات وتشريحها لغرض الحصول على كروموسومات الخلايا الجسمية (خلايا نقي العظم) واتبعت طريقة Allen وجماعته (Allen et.al ,1977) وكما يلي :-

- 1 - يثبت الفأر بعد قتله مباشرة على جهته الظهرية فوق طبق التشريح وتمسح الجهة البطنية للحيوان ومنطقة الفخذ بالكحول الايثيلي 70% .
- 2 - يقص الجلد فوق منطقة الفخذ وتزال العضلات حول عظم الفخذ الذي يمسك من وسطه بواسطة الملقط ثم يقطع ارتباطه بمفصلي الحوض والركبة وتنزع الاقراص المرتبطة بالمفصليين .
- 3- ينظف العظم خارج جسم الحيوان من بقايا العضلات ثم يمسك بشكل عمودي على فوهة انبوبة اختبار وبواسطة محقنة نبيذة معقمة بحقن 5 سم<sup>3</sup> من داريء الفوسفات الفسلجي لغسل العظم وانزال كل النقي بحيث يصبح لون العظم ابيضاً لخلوه من محتواه الخلوي .
- 4 - بنفس الطريقة يتم استخراج وغسل عظم الساق وجمع نقي كل فخذين وساقين لفأر واحد في انبوبة اختبار واحدة ويؤشر عليها الجرعة ورقم التجربة ورقم الحيوان .
- 5 - تطرد الانابيب الحاوية على نقي العظم مركزياً بسرعة 2000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق .
- 6 - يزال الرائق ويضاف الى الراسب 5 سم<sup>3</sup> من محلول كلوريد البوتاسيوم بتركيز 0.075 مولاري . تحضن الانابيب بدرجة 37 م لمدة ساعة واحدة يتخللها رج الانابيب بين فترة واخرى .
- 7 - تطرد الانابيب مركزياً بسرعة 2000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق .
- 8 - يزال الرائق ويضاف الى الراسب المحلول المثبت بالتدرج على شكل قطرات تسال على الجدار الداخلي للانبوبة مع المزج المستمر ثم يكمل حجم المثبت المضاف ليصل الى (5 سم<sup>3</sup>) وترج محتويات القنينة جيداً .

- 9 – توضع الانابيب بدرجة حرارة (4 م) لمدة نصف ساعة لغرض تثبيت الخلايا . تعاد عملية التثبيت ثلاث مرات ثم تعلق الخلايا في 1 – 2 سم<sup>3</sup> من المحلول المثبت وتحفظ في الثلاجة .
- 10 – تخرج الانابيب الحاوية على الخلايا المثبتة ويتم اسقاط قطرات من محتويات الانبوبة على الشريحة الزجاجية النظيفة بمعدل 6-8 قطرات بصورة عمودية على الشريحة وعلى مسافة 3 اقدام لاتاحة الفرصة للانوية والكروموسومات للانتشار بشكل جيد ثم تجفف الشرائح الزجاجية على صحيفة ساخنة 50 م لمدة دقيقة واحدة .
- 11 – تصبغ الشرائح حيث ترتب في جار كوبلن حاوي على صبغة كمزا وتترك مدة (10-15) دقيقة . ثم تستخرج الشرائح وتغسل بالماء المقطر .
- 12 – تفحص الشرائح تحت المجهر الضوئي الاعتيادي حيث يتم فحص (1000) خلية وتحسب الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة منها ويستخرج معامل الانقسام الخيطي (M.I) حسب المعادلة الآتية (المالي ، 2001 )  
عدد الخلايا المنقسمة

$$\text{معامل الانقسام} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا}} \times 100$$

### النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج تاثير الاكريلمايد بتركيز (50 و 100) ملغم/كغم من وزن الجسم على معامل انقسام الخلايا الجسمية في الفأر الابيض وقد تم توضيحها من خلال الجداول حيث اظهرت نتائج تحليل التباين بمستويين والموضحة في الجدول رقم ( 1 ) الى وجود تاثير عال بمستوى ( $P < 0.01$ ) للتركيز على معامل انقسام الخلايا الجسمية واطهر جدول الوسط الحسابي (2) ان معامل انقسام الخلايا الجسمية ارتفع بزيادة التركيز حيث كانت قيمته لمجموعة السيطرة (12.13) وبالنسبة لتركيزي الاكريلمايد المستخدمة (50 ، 100) ملغم/كغم من وزن الجسم ( 13.5 ، 16.6) على التوالي وهي مختلفة معنوياً باحتمالية ( $P < 0.05$ ) عن مجموعة السيطرة . واطهرت نتائج تحليل التباين بمستويين جدول (1) الى ان هناك فروق معنوية بمستوى ( $P < 0.05$ ) للجرع المختلفة على معامل انقسام الخلايا الجسمية حيث يظهر الجدول رقم (2) حدوث ارتفاع في قيمة معامل الانقسام زاد بزيادة الجرع وللتركيزين . ان هذه الزيادة قد تعود الى تاثير الاكريلمايد على العمليات المتعلقة ببناء الـ DNA في الخلية وهذا يتفق مع دراسة (Ghanayem et.al ,1986b) والتي اشارت الى ان معاملة الجرذان بالاكريلمايد بتركيز (100 ، 200) ملغم /كغم من وزن الجسم تؤدي الى زيادة مفاجئة في تكاثر الخلايا الطلائية في المعدة .

كذلك تتفق مع دراسة (Miller et.al ,1985) والتي اشارت الى ان معاملة الجرذان بالاكريلمايد تؤدي الى زيادة في الطبقة الطلائية للغدد كذلك حدوث تنسج في الجهاز التنفسي .

في حين اشارت دراسة (Ghanayem et.al,1977) ان الاكريلمايد يسبب فشل في حزم DNA في المعدة والكبد في الجرذ ان المعاملة بالاكريلمايد بواسطة التغذية الانبوية بجرع اعلى من (400) ملغم/كغم من وزن الجسم . كذلك اشارت دراسات اخرى الى ان الاكريلمايد يسبب Micronucleus في نخاع العظم للفئران وضعف في خلايا الطحال .

(Przrojewska .e.al,1984) ، (Ashby et.al,1989) . ويسبب كذلك فشل في تبادل القطع في الكروماتيدية وحدثت انحرافات كروموسومية في خلايا الطحال في الفئران Invtro

(Kligerman et.al,1991)(Moor et .al1988) (Moor et.al,1989)

جدول(1)تحليل التباين لدراسة تاثير الاكريلمايد بتركيز وجرع مختلفة على معامل انقسام الخلايا الجسمية.

متوسطات المربعات	درجات الحرارة	مصادر التباين
معامل الانقسام	D.F.	S.O.V.
57.18**	3	التركيز A
3*	2	الجرع B
0.43 N.S	11	التداخل AB
7.01	57	الخطأ التجريبي

\* ( $P < 0.05$ ) \*\* ( $p < 0.01$ ) (N.S.) غير معنوي.

جدول (2) الوسط الحسابي لمعاملة انقسام الخلايا الجسمية

المتغيرات	معامل انقسام الخلايا %
التركيز (ملغم/كغم)	12.139 <sup>a</sup>
C	13.5 <sup>b</sup>
50	14.6 <sup>c</sup>
100	
L.S.	2.02

الجرع (اليوم)	
1	7.68 <sup>b</sup>
2	8.93 <sup>a</sup>
3	9.45 <sup>a</sup>
4	9.63 <sup>ab</sup>
L.S.D	1.57

( السيطرة C ) الحروف ( a.b.c ) المماثلة لا تختلف معنوية بمستوى (P<0.05)

#### المصادر العربية

المياي ، اشواق عبد جبير (2001) دراسة تأثير تداخل كبريتيت الصوديوم واوكسيد الخارصين على بعض مؤشرات الوراثة الخلوية في الفأر الابيض رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة القادسية .

#### References

**IARC(1986)** IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans , Vol.39,some Chemicals Used in Plants and Elastomers, Lyon,PP,81-98.

**IARC(1987)** IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans , Supplement 7,Overall Evaluations of Carcinogenicity : An updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42,Lyon,P.63.

**Stadler,R.H.,Blank,I.Varga,N.Rober,F.Hau,J.Gay,P.A.and Rober,M.C.**Nature 419(69006)(2002).449-450 .

**Lide,D.R.(1995)** CRC Hand book of chemistry and Physics , 76<sup>Th</sup> Ed ., Boca Raton,FL,CRCPress, P.3-290 .

**United states International** Trade Commission (1994). Synthetic organic Chemicals : Us Production and Sales ,1993(Usitc Publ . 2810) Washington DC , United States Government Printing Office P.3-85.

**Potter,D.W. and Tran ,T.B.(1992).** Rates of ethylacrylate binding to glutathione and protein toxicol . Lett., 62,275-285 .

**Moore,M.M,Amtower,A. Doerr,C.L.Brock,K.H. & Dearfield,K.L.(1988)** .Genotoxicity of acrylic acid , mtthyl acrylate, ethyl acrylate, methyl metha crylate and ethyl methacrylate in L5178 Y mouse Lymphona cells .Environ.mol.Mutag.11,49-63.

**Moore,M.M., Harrington .Brock ,K.,Doerr,C.L. & Dearfield ,K.L.(1989).** Differential mutant quantization at the mouse Lymphoma tk and cHo hgppt Loci. Mutagenesis ,4,394-403 .

**Moore,M.M,Parker,L.Huston.J.Harrington–Brock,K. & Dearfield,K.L.(1991)** .Comparison of mutagenicity results for nin compounds evaluated at the hgppt Locus in the standard and suspension cHo assays- Mutagenesis , 6,77-85.

**McGreor,D.B., Brown,A.,Cattanach,P.,Edwards,I. McBride,D.,Riach,C. & Caspary, W.J.(1988).** Responses of the L5178Y tk+ / tk- mouse Lymphoma cell forward mutation assay : III .72 coded chemicals .*Environ. mol. Mutag.* 12,85-154 .

**Ghanayem,B.I.,Maronpot,R.R. &Matthews, H.B.(1986 b).** Association of chemically induced fore stomach cell proliferation and carcinogenesis. *Cancer Lett* . 32,271-278 .

**Ghanayem,B.I.,Burka,L.T. & Matthews .H.B(1987).** Ethyl acrylate distribution , macromolecular binding , excretion and metabolism in male fisher 344 rats. *Fundam. Appl.Toxical.*, 9, 389-397 .

**Miller,R.R.,Young,J.T.Kociba,R.J.Keyes,D.G.Bonder,K.M.,Calhoun,L.L. & Ayres,J.A(1985)** chronic Toxicity and oncogenicity bioassay of inhaled ethyl acrylate in fisher 344 rats and B6C3F, mice. *Drug chem.Toxical*, 8, 1-42 .

**Ashby,J.,Richardson ,C.R. & Tinwell,H.(1989) .** Inactivity of ethyl acrylate in the mouse bone marrow micronucleus assay . *Mutagenesis* , 4,283-285 .

**Przybojewaka,B.,Dziubaltowska,E. & Kowalski,Z.(1984).** Genotoxic effects of ethyl acrylate and methyl acrylate in the mouse evaluated by micronucleus Test.*Mutat. Res.*,135,189-191.

**Kligerman,A.D.,Atwater,A.L.,Bryant,M.F.,Erexon,G.L.,Kwanyuen.&Dearfiel,K. L.(1991).** Cytogenetics studies of ethyl acrylate using C57bl/6 mice . *Mutagenesis* ,6,137-141.

**Hangerford,D.A(1965).** Leukocytes cultured of whole blood and the preparation metaphase chromosomes by treatment with hypotonic kcl stain tech. 90:333-337 .

**Allen,J.;Shuler, C. and Latt,S.A.(1977).** A simplified technique for invivo analysis of SCE using 5-Brdu tablets : *cyto.cel.Genet.*, 18:231-234 .

**The effect of Acrylamide on the mitotic index  
of somatic cells in white mouse**

Wijdan Th.M.

College of sciences/ AL.Qadisiay University

**Abstract**

Acrylamide is one of the carcinogenic materials which effect man and animals . The following biological parameters were studied in animals received either one or several injections (50,100) mg of Acrylamide of body weight during giving it once or more up on the mitotic index of the somatic cells of albino mice balb-c-strain . The results of the analysis showed that there was a high significant effect in (P<0.01) in the concentrations on the mitotic index of the somatic cells . The results says that mitotic index of somatic cells (bone marrow cells) becomes high because of the increase of concentration .

