

Mutagenic Effects of Carboplatin on Somatic Cells of Male Albino Mice

Salwa Quita, Mohammed Zainy Mutawakal, Lina Kurdi, & Badriah Hifni

College of Science for Girls- King Abdul Aziz University, Department of Biology “ Zoology” Department of Biology “ Zoology”, College of Science for Girls, King Abdul Aziz University
P O Box 4938, Jeddah 21412, Kingdom of Saudi Arabia

ABSTRACT

Carboplatin is one of the anticancer drugs used in chemotherapy for cancer patients. Cytogenetic effects were evaluated by employing bone marrow micronucleus test, one of the short-term tests that adopted in such studies. Micronucleus test was used by injecting the mice with the three doses for five consecutive days into the intraperitoneal injection. Toxicity of carboplatin was observed in stimulates the production of micronucleus in polychromatic erythrocytes of bone marrow of treated mice. A dose-response relationship was observed giving evidence that carboplatin is positive clastogene.

ID# (2685)

Rec. 31/05/2012

In-revised 02/01/2013

Corresponding Author;

Lina Kurdi

E: mail: dr.lina_kurdi@hotmail.com

KEYWORDS

carboplatin, Cytogenetic effects, micronucleus test, polychromatic erythrocytes, mice

التأثير المطفر لعقار الكاربوبلاتين على الخلايا الجسدية لذكور الفئران البيضاء

سلوى قيطه، محمد زيني متوكل، لينا كردي، و بدرية حفني

قسم علم الأحياء «علم الحيوان» كلية العلوم للبنات، جامعة الملك عبد العزيز
ص.ب 4938 جدة، الرمز البريدي 21412، المملكة العربية السعودية

المُستخلص

يعتبر عقار الكاربوبلاتين أحد العقاقير المضادة لنمو الأورام السرطانية والمستخدم في العلاج الكيميائي لمرضى السرطان، وقد تم قياس السمية الخلوية الوراثية لعقار الكاربوبلاتين باستخدام (*micronucleus test*) اختبار النواة الدقيقة في خلايا نخاع العظم كأحد الاختبارات قصيرة المدى والمعتمدة في مثل هذه الدراسات. هذا وقد اختبرت ثلاثة جرعات وهي الجرعة الطبية تحت الحادة (2مجم/كجم)، ضعف الجرعة الطبية تحت الحادة (4مجم/كجم) وخمسة أضعاف الجرعة الطبية تحت الحادة (10مجم/كجم)، وقد تمت معاملة الفئران في التجويف البريتوني ولمدة خمسة أيام متتالية. أوضحت نتائج الدراسة مدى سمية عقار الكاربوبلاتين في تحفيز ظهور الكريات الدموية الحمراء متعددة الاصطباغ والمحتوية على نواة دقيقة في نخاع عظم الفئران المعاملة بالجرعات المختلفة من العقار، وقد كانت هناك علاقة موجبة مع كل الجرعات مظهرًا بذلك دليلاً على القدرة التفسيرية لعقار الكاربوبلاتين على الكروموسومات

رقم المسودة ID # (2685)

إستلام المسودة: 2012/05/31

إستلام المُعدّلة: 2013/01/02

الباحث المُراسل: لينا كردي

بريد إلكتروني:

dr.lina_kurdi@hotmail.com

الكلمات الدالة

الكاربوبلاتين، السمية الخلوية الوراثية،
الكريات الدموية الحمراء، مُتعددة
الاصطباغ، نواة دقيقة، الفئران.

المقدمة

لاحظ علماء الخلية والوراثة في الآونة الأخيرة ، أن كثرة استعمال العقاقير والأدوية والتعرض للإشعاع وكذلك استعمال المبيدات في مختلف صورها والكيماويات عموماً قد تحدثت أضراراً بالغة للمادة الخلوية والوراثية للخلية ، وإذا ما كان تعرض الإنسان لهذه المواد كافياً ولفترة تسمح لكي تحدث آثارها السامة خلويًا ووراثيًا وذلك سواء في الخلايا الجسمية somatic cells أو في الخلايا الجرثومية germ cells للكائن (Brusick, 1982) فلا شك أن هذه التأثيرات تستحق الانتباه ليس فقط لحماية المادة الوراثية للأجيال القادمة ولكنها ذات أهمية أيضاً لحماية صحة الإنسان نفسه في الوقت الحاضر (Sobels and Vogels, 1976). لذا فقد اختير للدراسة الحالية عقار الكاربوبلاتين carboplatin والذي يعتبر في الوقت الحاضر أحد أكثر العقاقير فعالية في علاج الأورام السرطانية منذ عام 1981م، Vijayalaxmi and D'souza (2004) حيث يستخدم في معالجة سرطان الثدي (Brambilla, et al., 1993)، سرطان المثانة البولية (Hartmann and Lipp, 2003)، سرطان الرأس والعنق (Fujimoto, 2006)، سرطان الخلايا الحشوية في تجويف الفم والبلعوم (Takagi, et al., 2006) سرطان المعدة (Chen, et al., 2007) السرطان المتقدم للخلايا الطلائية للمبايض (Markman, 2009). وحيث أنه كثيراً ما يساور القلق مرضى السرطان حول العقار المناسب لمرضهم وحول ما سيكون لهذا العقار من تأثير على أجسامهم ولأن تخفيف التأثيرات السمية للعقاقير المضادة للسرطان تكون نتيجة التقييم العلمي لها، فإن هذه تهدف إلى دراسة القدرة المطفرة لعقار الكاربوبلاتين وذلك من خلال تحديد تأثيراته الوراثية الخلوية عن طريق تطبيق أحد الاختبارات قصيرة المدى battery of short-term tests والمصممة من أجل ذلك الغرض في الخلايا الجسدية لذكور الفئران.

المواد والطرق

(1) المواد وعينة الحيوان المستخدمة

استخدم عقار الكاربوبلاتين carboplatin والمعروف تجارياً باسم (EBEWE pharma Ges., paraplating paraplating AQ Austria, Europe)، وهو عبارة عن مسحوق لونه أبيض ويذاب بسهولة في الماء المقطر distilled water أو في المحلول الفسيولوجي (كلوريد الصوديوم 0.9 %) normal saline وتم الحصول عليه من مستشفى الملك عبد العزيز بجدة. أجريت تجارب هذا البحث على عدد 12 فأراً من ذكور الفئران البيضاء Albino mice (Mus Musculus, 2n= 40) تم إختيارها من سلالة MFI البالغة من العمر 09-10 أسبوعاً والتي قد تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لمركز الملك فهد الطبي الكائن في جامعة الملك عبد العزيز بجدة، حيث وضعت هذه الفئران في أقفاص بلاستيكية خاصة تحت ظروف معملية مناسبة وفي غرفة خاصة جيدة التهوية، تتراوح درجة الحرارة فيها بين 22 م - 25 م ، ونسبة الرطوبة فيها ما بين 45 % - 75 %، وذات إضاءة مناسبة لمدة 12 ساعة إنارة نهاراً و 12 ساعة ظلام ليلاً، ويتم توفير الماء لها يومياً وتغذيتها بالعلائق الجافة المتوازنة الخاصة بحيوانات التجارب.

(2) الطرق

(1.2) استخدم في هذا الاختبار عدد 12 فأراً من من ذكور الفئران البيضاء والتي قد تم إختيارها من سلالة MFI البالغة من العمر 09-10 أسبوعاً، وقُسمت إلى أربعة فئات رئيسية هي كالآتي :

- (أ) اشتملت على عدد ثلاثة (3) فئران تمت معاملتها بالمحلول الفسيولوجي واعتبرت العينة الضابطة للتجارب.
 - (ب) اشتملت على عدد ثلاثة (3) فئران تمت معاملتها بالجرعة الطبية تحت الحادة من عقار الكاربوبلاتين (80 مجم/متر²) عن طريق الحقن في التجويف البريتوني intraperitoneal injection (i.p.) ولمدة خمسة أيام متتالية.
 - (ج) اشتملت على عدد ثلاثة (3) فئران تمت معاملتها بضعف الجرعة الطبية تحت الحادة من عقار الكاربوبلاتين (160 مجم/متر²) عن طريق الحقن في التجويف البريتوني intraperitoneal injection (i.p.) ولمدة خمسة أيام متتالية كجرعة بحثية زائدة.
 - (د) اشتملت على عدد ثلاثة (3) فئران تمت معاملتها بخمسة أضعاف الجرعة الطبية تحت الحادة من عقار الكاربوبلاتين (400 مجم/متر²) عن طريق الحقن في التجويف البريتوني intraperitoneal injection (i.p.) ولمدة خمسة أيام متتالية كجرعة بحثية زائدة.
- هذا وقد أتبع في هذه الطريقة ما ورد عن (Chabner, et al., 2006) وتم تعديل عدد الجرعات لمعاملة الفئران إلى 2، 4، 10 مجم/كجم على التوالي تبعاً (Paget and Barnes, 1964).

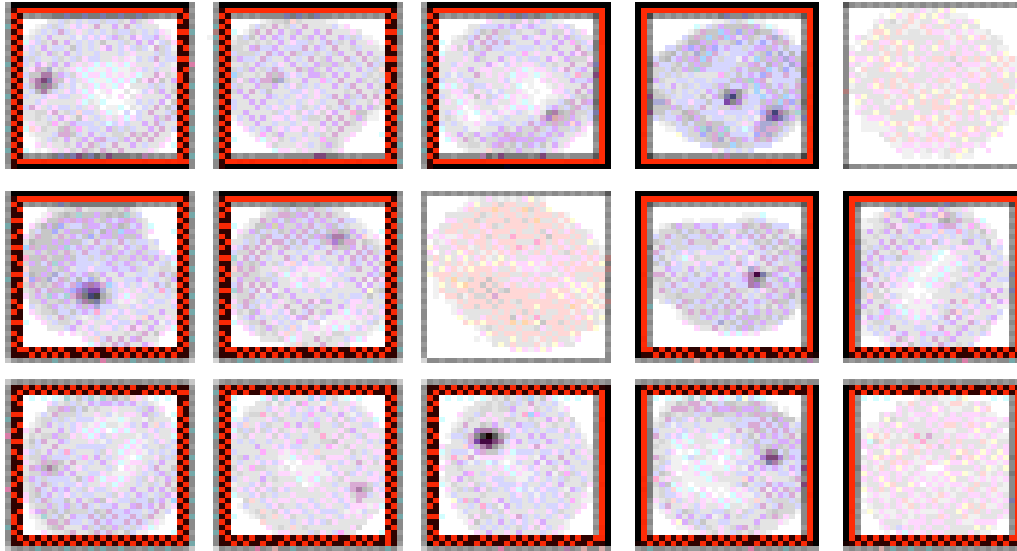
(2.2) أتبعنا الطريقة التي قد اقترحها كل من (Weber, et al., 1973)؛ (Heddle, 1973)؛ (Schmid, 1973) في تحضير الشرائح من نخاع العظام وتتلخص هذه الطريقة في الآتي: بعد موت الحيوان ، يتم نزع عظمين الفخذ واستخلاص نخاع العظم منها ووضعها في أنبوبة طرد مركزي بها حوالي 1سم من مصل جنين العجل Foetal Culf Serum ويتم خلط محتويات نخاع العظم جيداً مع المصل بواسطة ماصة باستير. تتم عملية الطرد المركزي لمدة 10 دقائق بمعدل 1000 لفة في الدقيقة ويتم التخلص من السائل السطحي ثم يتم إضافة حوالي 0.5 مل من المصل على الخلايا، قُلِبَت جيداً وعملت سحبات من التحضير على شرائح نظيفة سبق تجهيزها. جُفِفَت الشرائح ثم ثبتت في كحول ميثيلي مطلق Absolute Methy1 Alcohol ثم صُبِغَت بصبغة الهيماتوكسيلين - إيريوسين (Pascoe and Gatehouse, 1986). تم فحص عدد 1000 خلية من خلايا كريات الدم الحمراء غير الناضجة Polychromatic Erythrocytes (PECs) من كل عينة من العينات المجهزة، وجرى حصر لمدى تواجد الأنوية الدقيقة مع الحرص على مراعاة القواعد التي قد أوصت بها بعض الدراسات السابقة عند فحص الأنوية الدقيقة (Hayashi, et al., 1984)؛ (Schmid, 1975) (Albanese & Middleton 1987). ولحساب معدل التأثير المُطفر لعقار الكاربوبلاتين على استحداث الأنوية الدقيقة تم تطبيق المُعادلة التالية تبعاً لطريقة (Shukla and Taneja 2002)

$$100 - 100 \times \left\{ \frac{\% \text{ لاستحداث الأنوية الدقيقة للمعاملة بعقار الكاربوبلاتين}}{\% \text{ لاستحداث الأنوية الدقيقة في العينة الضابطة}} \right\}$$

(3.2) التحليل الإحصائي

Anova، حيث اعتبرت النتائج معنوية عند مستوى 05,0 ورمز لها بنجمة واحدة* وعالية المعنوية عند مستوى 01.0 ورمز لها بنجمتين** وفائقة المعنوية عند مستوى 001.0 ورمز لها بثلاث نجومات*** (Haseman and Soares, 1976)

تم حساب معنوية النتائج المتحصل عليها من هذا الاختبار عن طريق تطبيق كل من اختبار student's t test وتحليل التباين

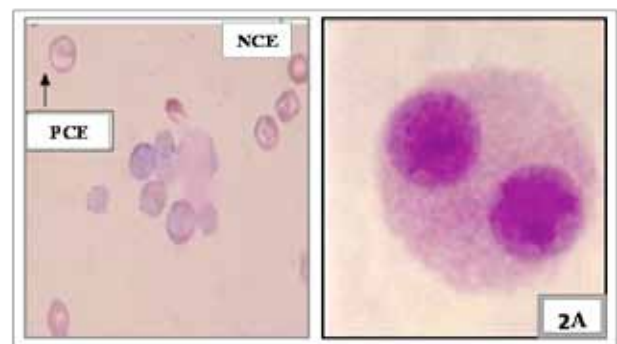
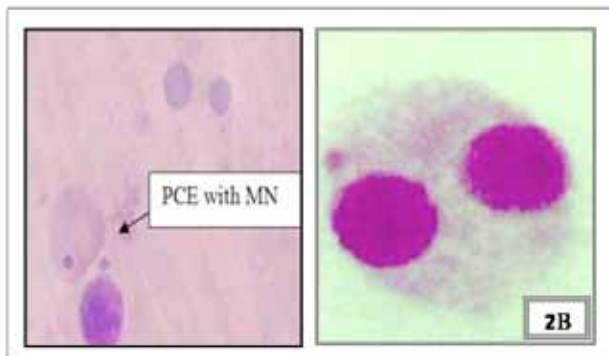


شكل 1 : يوضح أشكال مختلفة لكريات دموية حمراء مُتعددة الاصطباغ طبيعية أو مُحْتوية على أنوية دقيقة

النتائج

إذ يلاحظ من الجدول (1) أن المعاملة بالجرعات 2، 4، 10مجم/كجم قد أظهرت استجابة مع اختبار النواة الدقيقة وكان متوسط كريات الدم الحمراء غير الناضجة المحتوية على نواة دقيقة مرتفعاً وبدرجة عالية المعنوية فظهر 1.45 ± 10.33 ، 1.45 ± 27.67 نتيجة المعاملة بالجرعة 2 و 4 مجم/كجم على التوالي وبدرجة فائقة المعنوية عند المعاملة بجرعة 10مجم/كجم حيث كان 2.33 ± 36.33 مقارنة بمتوسط العينة الضابطة 2.03 ± 3.33 .

أظهر الفحص المجهرى سهولة التعرف على كريات الدم الحمراء غير الناضجة سواء بعدم احتوائها على نواة دقيقة كما في الشكل (2). (A)، أم باحتوائها على نواة دقيقة كما في الشكل (2). (B). وتشير النتائج المُتَحَصَّل عليها من معاملة ذكور الفئران بجرعات مختلفة من عقار الكاربوبلاتين إلى القدرة السمية لهذا العقار والتي قد ظهرت جلياً على خلايا نخاع العظام وذلك بعد 24 ساعة من آخر جرعة،



شكل 2: صورة مجهرية تُوضِّح خلايا نخاع العظم في ذكور الفئران المُعاملة وتُظهر فيها: (A) كريات دموية حمراء مُتعددة الاصطباغ طبيعية، (B) كريات دموية حمراء مُتعددة الاصطباغ مُحْتوية على أنوية دقيقة

جدول 1: أثر المعاملة بالجرعات المختلفة من عقار الكاربوبلاتين على متوسط ظهور كريات الدم الحمراء متعددة الاصطباغ والمحتوية على النواة الدقيقة في ذكور الفئران .

الفئات	المعاملة	رقم الحيوان	عدد كريات الدم الحمراء متعددة الأصباغ المحسوبة	عدد كريات الدم الحمراء متعددة الأصباغ المحتوية على النواة الدقيقة	(%) لمعدل استحداث الأنوية الدقيقة
(أ)	العينة الضابطة محلول فسيولوجي	1 2 3 المتوسط ± الخطأ القياسي	1000 1000 1000	7 3 0 2.03±3.33	%0.33
(ب)	المعاملة بالجرعة 2 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين	1 2 3 المتوسط ± الخطأ القياسي	1000 1000 1000	10 13 8 ↑**1.45±10.33	%1.03
(ج)	المعاملة بالجرعة 4 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين	1 2 3 المتوسط ± الخطأ القياسي	1000 1000 1000	28 25 30 ↑**1.45±27.67	%2.77
(د)	المعاملة بالجرعة 10 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين	1 2 3 المتوسط ± الخطأ القياسي	1000 1000 1000	37 40 32 ↑2.33±36.33	%3.63

(معنوي عند 0.05، ** معنوي عند 0.01، * معنوي عند 0.001) كما ظهرت النسبة المئوية لمعدل استحداث الأنوية الدقيقة بقيمة 0.33 %، 1.03 %، 2.77 %، 3.63 % نتيجة المعاملة بالجرعات صفر، 2، 4، 10 مجم/كجم، هذا ويتضح من النتائج السابقة وجود علاقة طردية حيث كان متوسط عدد الأنوية الدقيقة المتكونة يزداد مع زيادة الجرعة المعامل بها من العقار شكل (3).

جدول 2: مقارنة أثر المعاملة بالجرعات المختلفة من عقار الكاربوبلاتين على متوسط ظهور كريات الدم الحمراء متعددة الاصطباغ والمحتوية على النواة الدقيقة من خلال تحليل التباين وأقل فرق معنوي.

الفئات	المعاملة	اختبار المقارنة لأقل فرق معنوي (LSD)		تحليل أنوفا (ANOVA)	
		المعنوية (Sig)	فرق المتوسطات	المعنوية (Sig)	قيمة (F)
(ب)	المعاملة بالجرعة 2 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين	**	7.00 -	**	67.30
(ج)	المعاملة بالجرعة 4 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين	**	28.33 -		
(د)	المعاملة بالجرعة 10 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين	**	33.00 -		

(معنوي عند 0.05، ** معنوي عند 0.01، * معنوي عند 0.001) وبحساب اختبار المقارنة لأقل فرق ذو دلالة إحصائية LSD نتج الفرق ذو الدلالة الإحصائية الفائقة المعنوية ($p < 0.001$) في متوسط ظهور الكريات الدموية الحمراء متعددة الاصطباغ والمحتوية على نواة دقيقة نتيجة كلاً من المعاملة بالجرعة 4 و 10 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين بينما سجل الفرق ذو الدلالة الإحصائية العالية المعنوية نتيجة المعاملة بالجرعة 2 مجم/كجم من عقار الكاربوبلاتين، أنظر شكل (4).

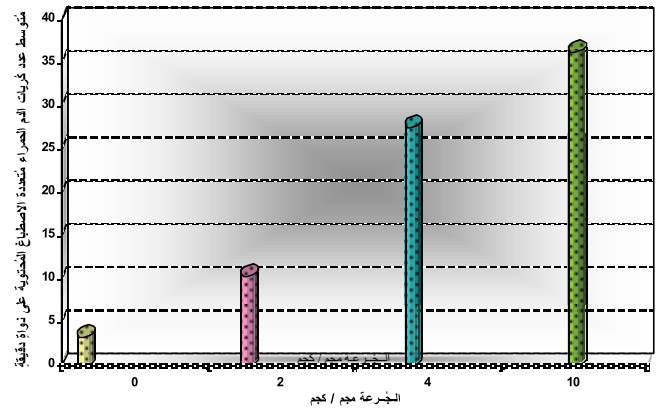
من هنا أمكن ترتيب المُعاملات من حيث تأثيرها الأعلى في ارتفاع متوسط استحداثات الأنوية الدقيقة كالتالي:

المُعاملة بالكاربوباتين 2مجم/كجم > المُعاملة بالكاربوباتين 4مجم/كجم > المُعاملة بالكاربوباتين 10مجم/كجم

المناقشة

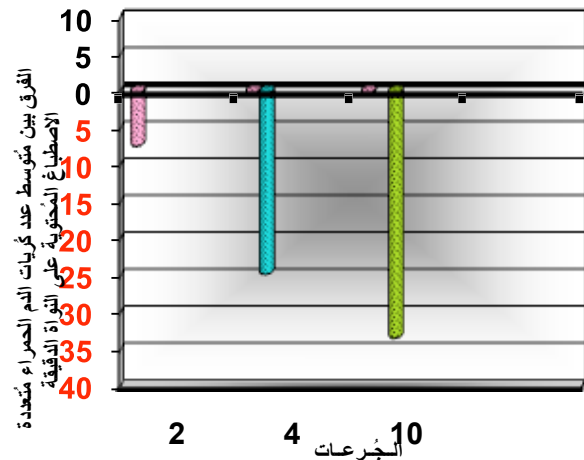
هدفت هذه الدراسة إلى التعرف على القدرة المطفرة لعقار الكاربوباتين من حيث دراسة تأثيراته الخلوية الوراثية، ولتحقيق هذا الهدف اختيرت سلالة من الفئران المعملية البيضاء كحيوان ثديي، كما تم اختيار ثلاث جرعات من العقار وهي الجرعة العلاجية اليومية (80مجم/كجم) وضعفها علاوة على خمسة أضعافها وذلك للتحقق من تأثيرها السُمي، وقد عوملت ذكور الفئران البالغة من العمر 9-10 أسابيع بهذه الجرعات لمدة خمسة أيام متعاقبة. وطُبق في هذه الدراسة أحد الاختبارات قصيرة المدى وهو اختبار النواة الدقيقة في كريات الدم الحمراء غير الناضجة في نخاع العظم. هذا ولقد أظهرت نتائج اختبار النواة الدقيقة قدرة عقار الكاربوباتين على استحداث كريات دموية حمراء مُعددة الاصطباغ مُحتوية على أنوية دقيقة (Micronucleated Polychromatic Erythrocytes (MN-PCEs) وبدلالة إحصائية عالية أو فائقة المعنوية في خلايا نخاع عظم الفئران ذات المُعاملة بالجرعات المختلفة من العقار ومُقارنته بالعينة الضابطة (أنظر جدول 1 وشكل 3)، كما اتضح وجود علاقة موجبة بين الجرعة من عقار الكاربوباتين والأثر الناتج عنها Dose Related Effect حيث ازدادت نسبة خلايا PCEs المحتوية على أنوية دقيقة بزيادة الجرعة المعامل بها.

يتفق هذا مع ما توصل إليه عددٌ من الباحثين السابقين عند استخدامهم عقار الكاربوباتين على الخلايا الورمية (Quintana, et al., 1994) وكذلك الخلايا اللمفاوية (Slavutsky, in vitro Lymphocytes (1995) et al., وأيضاً الخلايا اللمفية للإنسان human lymphocytes وخلايا المبيض للهامستر الصيني Chinese hamster ovary cells (Cid, et al., 1995) ونوعين من الخلايا غير العصبية لأجنة الجرذان non-neuronal cells خارج الجسم (Jirsova in vitro (1997) Al-Etaby and Tarboush, 2003) (Karpova, et al., 2001). كما وجد (Vijayalaxmi and D'souza, 2004) أنه بمعاملة إناث الفئران البالغة من العمر ثمان أسابيع في اليوم الرابع عشر من الحمل بجرعة مقدارها 30 و 60 و 90 مجم/كجم من وزن الجسم من عقار الكاربوباتين وذلك في التجويف البريتوني ثم أخذهم لعينات من نخاع العظم للأمهات وكبد الأجنة وذلك بعد 24 ساعة من معاملة الأمهات، أن الجرعات المختلفة من العقار قد أحدثت زيادة معنوية في معدل تكوين الأنوية الدقيقة في كل من نخاع العظم للأمهات وكذلك في نسيج الكبد الجنيني. وحيث أن الأنوية الدقيقة تتكون من أجزاء من الكروموسومات أو من كروموسومات تركت متبقية وحدها خلال الدور الانفصالي (Fenech and Morley, 1985) لذا فإن ظهور النواة الدقيقة يعتبر دليلاً قوياً على أثر المواد الكيميائية التي تحدث ضرراً في DNA والتي تعكس في الحقيقة عملية كسر كروموسومي وكذلك ضرراً لخيوط المعزل وفقاً لكلٍ من (Schmid, 1976)، (Jenssen and Ramel, 1980)، (Heddle, et al., 1983)، (Hayash, et al., 1984). وبهذا أصبح اختبار النواة الدقيقة وحدث الاختلالات الكروموسومية جزءاً أساسياً في برنامج تقييم أثر الكيماويات والعقاقير على الكروموسومات والذي



شكل 3: أثر المُعاملة بالجرعات المختلفة من عقار الكاربوباتين على مُتوسط ظهور كريات الدم الحمراء مُعددة الاصطباغ والمُحتوية على نواة دقيقة في ذكور الفئران. (الخط العمودي باللون الأصفر يوضح العينة الضابطة/ الخط العمودي باللون الأحمر يوضح المُعاملة بالجرعة 2مجم/كجم من عقار الكاربوباتين / الخط العمودي باللون الأزرق يوضح المُعاملة بالجرعة 4مجم/كجم من عقار الكاربوباتين / الخط العمودي باللون الأخضر يوضح المُعاملة بالجرعة 10مجم/كجم من عقار الكاربوباتين)

وعند حساب التأثير المُطفر على معدل استحداثات الأنوية الدقيقة فإن المُعاملة بالجرعات المختلفة (2، 4، 10مجم/كجم) من عقار الكاربوباتين قد أحدثت ارتفاعاً ملحوظاً كانت نسبته (- 212%)، (- 739%)، (- 1000%) على التوالي. وتُشير النتائج المُحصلة عليها من جدول (2) وجود دلالة إحصائية فائقة المعنوية ($p < 0.001$) في مُتوسط ظهور الكريات الدموية الحمراء مُعددة الاصطباغ والمُحتوية على نواة دقيقة مقداره ($F = 67.30$) ما بين المُعاملة بالجرعات المختلفة من عقار الكاربوباتين ومُقارنته بالعينة الضابطة.



شكل 4: أثر المُعاملة بالجرعات المختلفة من عقار الكاربوباتين على مُتوسط ظهور كريات الدم الحمراء مُعددة الاصطباغ والمُحتوية على النواة الدقيقة في ذكور الفئران من خلال تحليل التباين. (الخط العمودي باللون الأصفر يوضح العينة الضابطة/ الخط العمودي باللون الأحمر يوضح المُعاملة بالجرعة 2مجم/كجم من عقار الكاربوباتين/ الخط العمودي باللون الأزرق يوضح المُعاملة بالجرعة 4مجم/كجم من عقار الكاربوباتين / الخط العمودي باللون الأخضر يوضح المُعاملة بالجرعة 10مجم/كجم من عقار الكاربوباتين)

جزئ DNA والجزيئات الحيوية الأخرى في الخلية، كما وأن لهذه الشقوق الحرة القدرة على أكسدة الجزيئات الحلقية oxidation of surrounding molecules مثل جزئ DNA، الدهون والبروتينات ولربما يؤدي تدمير وإتلاف هذه الجزيئات الحيوية إلى العديد من الاعتلالات المرضية كالشيخوخة والسرطان aging and cancer (Ames, *et al.*, 1983)، (Feig, *et al.*, 1994). وحيث أن الدراسات السابقة قد أكدت على أن عقار السسبلاتين من العوامل السامة خلويًا ووراثيًا cytotoxic & genotoxic agent في الإنسان (Kojima, *et al.*, 1993)، (Misra and Choudhury, 2006)، (Sabry, *et al.*, 2008) كما أنه يعتبر عاملاً مؤكسداً قوياً، حيث يعمل على تخفيض معدلات المواد والإنزيمات المضادة للأكسدة في الأنسجة المختلفة (Bompart, 1990) وحيث أن هذه المواد معروفة بقدرتها على إزالة السمية الخلوية التي تحدثها المعاملة بالمركبات الكيميائية بما فيها العقاقير وذلك عن طريق عملها كمصائد scavenger للشقوق الحرة. لذا فإن المعاملة بعقار السسبلاتين أو نظيرة الكاربوبلاتين يترتب عليه نقص في ميكانيكية الحماية في الخلايا وزيادة في عمليات الأكسدة التي تكون نتيجتها انطلاق للشقوق الحرة المعروفة بقدرتها التدميرية للخلايا ومن ثم للأنسجة. ولعل هذا هو التفسير المنطقي لما تحدثه المعاملة بعقار الكاربوبلاتين. وبهذا يتضح أن ظهور الأنوية الدقيقة في خلايا نخاع العظام للفئران المعاملة بالجرعات المختلفة من عقار الكاربوبلاتين والمتحصل عليها من الدراسة الحالية لهو دليل جيد على الأثر السمي الوراثي لهذا العقار ومؤشراً على قدرته المطفرة.

المراجع باللغة الإنجليزية

- Adler ID, Kliesch U, Jentsch I, and Speicher, MR (2002) Induction of Chromosomal Aberrations by Dacarbazine in Somatic and Germinal Cells of Mice. *Mutagenesis.*, **17** (5): 383 – 389.
- Adler ID, Lngwersen I, Kliesch V, and El-tarras A (1988) Clastogenic Effects of Acrylamide in Mouse Bone Marrow Cells. *Mutat. Res.*, **206** (3): 379- 385.
- Albanese R, and Middleton BJ (1987) The Assessment of Micronucleated Polychromatic Erythrocytes in Rat Bone Marrow: Technical and Statistical Considerations. *Mutat. Res.*, **182**: 323 -332.
- Al-Etaby MK, and Abou-Tarboush FM (2003) Clastogenic Effects of Carboplatin on SWR/J Mouse Bone Marrow Cells. *Arab J. Biotech.*, **7** (1):75-82.
- Ames BN (1983) Dietary Carcinogens and Anticarcinogens: Oxygen Radicals and Degenerative Diseases. *Science*, **221** (4617): 1256-1264.
- Bajic V, Stanimiroic Z, and Stevanovic J (2004) Genotoxicity Potential of 8-C1-Cyclic Adenosine Monophosphate Assessed with Cytogenetic Tests *in vivo*. *Arch. Med. Res.*, **35** (3): 209- 214 .
- Bompart G (1990) Cisplatin Induced Changes on Cytochrome p-450, Lipid Peroxidation and some p-450 Related Specific Catalytic Activities in Rat Liver. *J. Toxicol. Clin. Exp.*, **10** (6): 375-383.
- Brambilla C, Ferrari L, Passoni P, and Bonadonna G (1993) Carboplatin in Combination as First Line Therapy in Advanced Breast Cancer. *Cancer .Treatment .Reviews.*, **19** (1):3-9.

يجري عادة على خلايا نخاع العظام في القوارض وخاصة للفئران (Heddle, (Schmid, 1975 & 1976)، (Chaubey, et al, 1978)، (et al, 1983)، (MacGregor, et al., 1987)، ومن ثم فهو يُستخدم في تحديد الكيماويات التي لها القدرة على إحداث ضرر للكروموسومات أولجهاز المغزل في الخلايا الأم التي تُكون كريات الدم الحمراء وذلك وفقاً (Schmid, 1975)، (Heddle and Carrano, 1977)، (Yamamoto and Kikuchi, 1980). هذا وقد أوضحت العديد من الأبحاث السابقة قدرة الكثير من المركبات الكيميائية على إحداث الأنوية الدقيقة في كريات الدم الحمراء غير الناضجة في الفئران والإنسان، وهذه الكيماويات تشمل العقاقير المضادة للسرطان الدم (Przybojewska, et al., 1984) وكذلك نتيجة المعاملة بالعقاقير المضادة لنمو الأورام السرطانية، منها (Albanese and Middleton, 1987)، (Neresyan, (Adler, et al., 1988 & 2002)، (Middleton, 1987)، (Bajic, et al., 2003)، (Choudhury, et al., 2004)، (Neresyan, (Morales-Ramirez, et al., 2004)، (Venkatesh, (Shahabuddin and Gopal, 2007)، (etal., 2006)، (Minicucci, et al., 2007)، (Minicucci, et al., 2008)، (Quita and Kurdi, 2009 & (Palo, et al., 2009)، (2008)، (2010)، (Devi, et al., 2010)، (Mazumdar, et al., 2011). وأخيراً (AL-Etaby and Abou-Tarboush 2003) من قدرة عقار الكاربوبلاتين على كسر الكروموسومات clastogenic effect عند معاملتهم لذكور وإناث الفئران بجرعة مقدارها 10 مجم/كجم من العقار في تجويفها البريتوني وأخذهم عينات من نخاع العظام بعد 6، 12، 24، 48، 72 ساعة من آخر معاملة ووجدوا أن هذه المعاملة أدت إلى زيادة معنوية في ظهور الاختلالات الكروماتيدية والكروموسومية في جميع الأوقات وأن أكثر الاختلالات ظهور وتكراراً هي الفجوات والكسور الكروماتيدية chromatid gaps and breaks. ويعتبر عقار الكاربوبلاتين مركب نظير analogous compound لعقار السسبلاتين فهو من الجيل الثاني وهو أقل سمية وتم إدخاله في المعالجات الطبية في العام 1981م وأظهر تشابهاً كبيراً في فعاليته ونشاطه لعقار السسبلاتين، وحالياً يتم استخدامه على نطاق واسع كعقار مضاد للأورام من مركبات البلاتينيوم في العالم (Sai Man Liu, 1998)، (Martindale, 2002) وينتمي كلاً من عقار السسبلاتين والكاربوبلاتين إلى مجموعة العوامل المؤلفة (المقلونة) ويعتبر الربط البيني interstrand cross-linkage بين شريطي DNA هو العامل الرئيسي في السمية الخلوية لمعظم العوامل المقلونة الفعالة طبياً، الأمر الذي يؤدي إلى جعل شريط DNA القالب template شريطاً خاملاً فيتوقف إنتاج DNA مؤدياً في النهاية إلى موت الخلايا (Erikson, et al., 1988)، (Garcia, et al., 1989) وليس ذلك فحسب بل تتميز بعض العوامل المقلونة بتأثيرها الضار على الأنسجة ذات معدل الانقسام المنخفض مثل الكبد والكلى، ولكنها قد تكون شديدة السمية على الأنسجة السريعة الانقسام مثل خلايا نخاع العظم (Padmalatha and Vijayalaxmi, 2001). وعلى الجانب الآخر فإن العوامل المقلونة هي عوامل مطلقة للشقوق الحرة فقد أفاد (Mazumdar, et al. 2011) أن المعاملة بعقاقير المعالجة الكيميائية ينتج عنها انطلاق للشقوق الحرة مثل جذور الأكسجين النشطة reactive oxygen species المتمثلة في hydrogen peroxide (H₂O₂) superoxide, radical and singleoxygen radical (Korkina, وهذا ما قد أشارت إليه دراسة (et al. 2000) بأن المعاملة بعقار الميتوميسين C (وهو أحد عقاقير المعالجة الكيميائية) ينتج عنه انطلاقاً لشقوق الهيدروكسيل الحرة [OH] radical المعروفة بقدرتها على إتلاف وتدمير

- Aberrations in Mouse Bone Marrow. *Mutat. Res.*, **127**: 129-137.
- Heddle, JA (1973)** A rapid *in vivo* test for chromosomal damage. *Mutat. Res.*, **120**:24-247.
- Heddle JA, and Carrano AU (1977)** The DNA Content of Micronuclei Induced in Mouse Bone Marrow by X-Irradiation: Evidence that Micronuclei Arise from a Centric Chromosomal Fragments. *Mutat. Res.*, **44** (1): 63-69.
- Heddle JA, Hite M, Kirkhart B, Mavournin K, MacGregor JT, Newell GW, and Salamone MF (1983)** The Induction of Micronuclei as a Measure of Genotoxicity, A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.*, **123** (1): 61 - 118.
- Jenssen D, and Ramel, C (1980)** The Micronucleus Test as Part of a Short-term Mutagenicity Test Program for the Prediction of Carcinogenicity Evaluated by 143 Agents Tested. *Mutat. Res.*, **75**: 191-202.
- Jirsová K, and Mandys, V (1996)** Carboplatin Induced Micronuclei Formation in Non-neuronal Cells of Rat Foetal Dorsal Root Ganglia Cultured *in Vitro* and Comparison with another Anticancer Drug--cisplatin. *Sb lek.*, **97**(3): 331- 342.
- Karpova GV, Fomina TI, Voronova OL, Abramova EV, and Loskutova OP (2001)** Early and Delayed Effects of Carboplatin on the Blood System. *bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **132**: 530-534.
- Kojima A, Shinkai T, and Saijo N (1993)** Cytogenetic Effects of C P T – 11 and its Active Metabolite, SN-38 on Human Lymphocytes. *JPN. J. Clin. Oncol.*, **23**:116-122.
- Korkina LG, Deeva LB, Biase AD, Iaccarino M, Oral R, Warnau M, and Pagano G (2000)** Redoxdependent toxicity of Diepoxybutane and Mitomycin C in Sea Urchin Embrogenesis. *Carcinogenesis*. **21**: 2213-2220.
- MacGregor JT, Heddle JA, Hite M, Margolin BH (1987)** Guidelines for the Conduct of Micronucleus Assays in Mammalian Bone Marrow Erythrocytes. *Mutat. Res.*, **189**:103-112.
- Markman, M (2009)** Combined Weekly Carboplatin and Paclitaxel as Primary Treatment of Advanced Epithelial Ovarian Carcinoma. *Gynecologic oncology*, **115**: 514-515.
- Martindale, (2002)** *The Extra Pharmacopoeia*. 32nd edition, James E, Reynolds F (eds.) Pharmaceutical Press, London, UK.
- Mazumdar M, Giri S, and Single S (2011)** Antioxidative Potential of Vitamin C Against Chemotherapeutic Agent Mitomycin C Induced Genotoxicity in Somatic and Germ Cells in Mouse Test Model. *Biological and Environmental Sciences.*, **7** (1):0975-2773.
- Minicucci EM, Ribeiro DA, and De Camargo B, (2008)** DNA Damage in Lymphocytes and Buccal Mucosa Cells of Children with Malignant Tumours Undergoing Chemotherapy. *Clinical and Experimental Medicine.*, **8** (1):79-85.
- Brusick D (1982)** Genetic Toxicology. In: **Hayes AW** (ed.), *Principles and Methods of Toxicology* . Raven Press, New York, USA. pp 223-272.
- Chabner BA, Amrein PC, Druker, BJ (2006)** *Chemotherapy of Neoplastic Diseases*. eleventh edition. Brunton LL, Lazo JS, and Parker KL (eds). McGraw Hill, UK. pp 1315-1402
- Chaubey RC, Kavi BR, Chauhan PS, and Sandaram K (1978)** The Effect of Hycanthone and Maleic Hydrazide on the Frequency of Micronuclei in the Bone Marrow Erythrocytes of Mice. *Mutat. Res.*, **57**:187-191.
- Choudhury RC, Palo AK, and Padhy A (2004)** Cytogenetic Consequences of Vinblastine Treatment in Mouse Bone Marrow. *Chemotherapy.*, **50** (4): 171-177.
- Chen J, Zhu J, Hong J, Chen M, Lu J (2007)** Effect of 2-(8-Hydroxy-6-Methoxy-1-Oxo-1H-2-Benzopyran-3-yl) Propionic Acid in Combination with Carboplatin on Gastric Carcinoma Growth *in vivo*. *World. J. Gastroenterol.*, **13**:509-514.
- Cid MG, Mudry M, and Larripa I (1995)** Chromosome Damage Induced by Carboplatin (CBDCA). *Toxicology. Letters.*, **76**: 97-103.
- Devi KR, Koushik A, and Reddy KV (2010)** Dose Response Relationship for Cisplatin Induced Micronuclei in Bone Marrow Erythrocytes of Swiss Albino Mice. *The Bioscan.*, **5** (4):567-569.
- Erikson JM, Tweedie DJ, Ducore, JM, and Prough, RA (1989)** Cytotoxicity and DNA Damage Caused by the Azoxy Metabolites of Procarbazine in L1210 Tumor Cells. *Cancer. Res.*, **49**: 127- 133.
- Feig, DI, Reid, TM, and Loeb, LA (1994)** Reactiveoxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res.* **54**: 1890-1894.
- Fenech M, and Morley AA (1985)** Measurement of Micronuclei in Lymphocytes. *Mutat. Res.*, **147** (1): 29-36.
- Fujimoto S (2006)** Schedule Dependent Antitumor Activity and Toxicity of Combinations of 5-Fluorouracil and Cisplatin: Carboplatin Against L1210 Leukemia Bearing Mice. *Biol. Pharm.Bull.*, **29**:2260-2266.
- Garcia ST, McQuillan A, and Panasci, L (1988)** Correlation between the Cytotoxicity of Melphalan and DNA Crosslink as Detected by the Ethidium Bromide Fluorescence Assay in the F1 Variant of B16 Melanoma Cells. *Biochem. Pharmacol.*, **37**:3189- 192.
- Gebel T, Lantzsch H, Plebow K, and Dunkelberg H (1997)** Genotoxicity of Platinum and Palladium Compounds in Human and Bacterial Cells. . *Mutat. Res.*, **389**: 183-190.
- Hartmann JL, and Lipp, HP (2003)** Toxicity of Platinum Compounds Expert Opinion on *Pharmaco. Therapy*, **4**: 889-901.
- Haseman JK, and Soares, ER (1976)** The Distribution of Fetal Death in Control Mice and its Implications on Statistical Tests for Dominant Lethal Effects. *Mutat. Res.*, **41**: 277-288.
- Hayashi M, Sofuni T, and Ishidate JRM (1984)** Kinetics of Micronucleus Formation in Relation to Chromosomal

- Pharmaceutical. J.*, **16** (1): 2-2.
- Sai Man Liu** (1998) Analogues, *In: Analogues.htm* Schmid W, 1973. Chemical Mutagen Testing *in vivo* Somatic Mammalian cells. *Agents Actions.*, **3**: 77-85.
- Schmid W** (1973) Chemical Mutagen testing on *in vivo* somatic mammalian cells. *Agents Actions.*, **3**: 77-85.
- Schmid W** (1976) The Micronucleus Test for Cytogenetic Analysis. *In: Hollaender, A* (ed.), Chemical Mutagens, Principles and Methods for their Detection, Plenum, New York. USA. pp4: 31-52.
- Schmid W** (1975) The Micronucleus Test. *Mutat. Res.*, **31** (1):9-15.
- Shahabuddin MS, and Gopal M** (2007) Genotoxicity of DNA Intercalating Anticancer Drugs: Pyrimido[4ⁱ,5ⁱ:4,5] Thieno (2,3-b) Quinolines on Somatic and Germinal Cells. *Toxicology Mechanisms and Methods.*, **17**:135-145.
- Shukla Y, and Taneja P** (2002) Antimutagenic Effects of Garlic Extract on Chromosomal Aberrations. *Cancer. Lett.*, **176** (1):31-36 .
- Slavutsky I, Campos E, Cid MG** (1995) Micronuclei Induction by Carboplatin in Human Lymphocyte Subpopulations . *Anti-Cancer Drugs.*, **6**: 709-777.
- Sobels FH, and Vogel E** (1976) Some Problems Associated with the Testing for Environmental Mutagens. *In:- the Evaluation of Toxicological Data for the Protection of Public Health. Proc. Inter. Colloquium.*, pp39 -5.
- Takagi S, Inenaga R, Oya R** (2006) Blood Vessel Density Correlates with the Effects of Targeted Intra-arterial Carboplatin Infusion with Concurrent Radiotherapy for Squamous Cell Carcinomas of the Oral Cavity and Oropharynx. *British Journal of cancer.*, **94**:1580-1585.
- Venkatesh P, Shantala B, Jagetia GC** (2007) Modulation of Doxorubicin-Induced Genotoxicity by Aegle marmelos in Mouse Bone Marrow: A Micronucleus Study. *Integrative Cancer Therapies.*, **6** (1):42-53.
- Vijayalaxmi KK, and D'souza MP** (2004) Studies on the Genotoxic Effects of Anticancer Drug Carboplatin in *in vivo* Mouse. *Int. J. Hum. Genet.*, **4**:249-255.
- Vilar JB, Leite KR, and Chen LC** (2009) Antimutagenicity Protection of Ginkgo Biloba Extract (Egb 761) Against Mitomycin C and Cyclophosphamide in Mouse Bone Marrow. *Genetics and Molecular Research.*, **8**(1): 328-333.
- Weber, E, Bidwell K, and Legator , MS** (1975) An Evaluation of the Micronuclei Test using Triethylenemela Mine Trimethyl Phosphate, Hycanthone and Niridazole. *Mutat. Res.*, **28**: 101-106.
- Yamaoto KI, and Kikuchi, Y** (1980) Comparison of Diameters of Micronuclei Induced by Clastogens and by Spindle Poisons. *Mutat. Res.*, **71**:127-131.
- Misra S, and Choudhury RC** (2006) Vitamin C Modulation of Cisplatin Induced Cytogenotoxicity in Bone Marrow, Spermatogonia and its Transmission in the Male Germline of Swiss Mice. *J. Chemother.*, **18** (2): 182-187.
- Morales-Ramirez P, Vallarino-Kelly T, Cruz-Valle VL, and Lopez-Ituralvai- Delgadillo H** (2004) *In Vivo* Kinetics of Micronuclei Induction by Bi-functional Alky Antineoplastics. *Mutagenesis.*, **19** (3):207- 213 .
- Nersesyan A, Perrone E, Roggieri P** (2003) Genotoxic Action of Cycloplatam, a New Platinum Antitumor Drug, on Mammalian Cells *in vivo* and *in vitro*. *Chemotherapy.*, **49**:132-137.
- Nersesyan A, Perrone E, Roggieri P** (2006) Cytogenetic Toxicity of Cycloplatam in Human Lymphocytes: Detection by the Micronucleus Test and Fluorescence in Situ Hybridization. *Anti .Cancer. Drugs*, **17**:289-295.
- Padamalatha RS, and Vijayalaxmi KK** (2001) Tamoxifen Acetate Induced Sperm Abnormalities in the *in vivo* Mouse. *Genetic Toxicology and Environ Mutagen*, **492** (1):1-6.
- Paget GE, and Barnes JM** (1964) Evaluation of Drug Activities and Pharmacokinetics. Academic Press, London , UK. pp135-136.
- Palo AK, Sahoo D, and Choudhury RC** (2009) Cytosine Arabinoside Induced Cytogenotoxicity in Bone Marrow and Spermatogonial Cells of Mice and its Potential Transmission through the Male Germline . *Mutat .Res* ., **673** (1):29-36.
- Pascoe S, and Gatehouse, D** (1986) The use of a Simple Heamatoxylin and Eosin Staining Procedure to Demonstrate Micronuclei within Rodent Bone Marrow. *Mutat. Res.*, **167**: 237-243.
- Przybojewska B, Dziubaltowska E, and Kowalski Z** (1984) Genotoxic Effect of Ethyl Acrylate and Nethyl Acrylate in the Mouse Evaluated by the Micronucleus test . *Mutat. Res.*, **135**: 189-191.
- Quintana E, Pertusa J, González R, and Renau-Piqueras J** (1994) Carboplatin Treatment Induces Dose-dependent Increases in the Frequency of Micronuclei in Ehrlich Ascites Tumor Cells. *Mutat .Res.*, **322** (1): 55-60.
- Quita SM** (2009) The Ability of Honey Bee in Reducing the Sperm-head Abnormalities in Mice as a Result of Treatment with Cisplatin. *Alexandria Journal of Agricultural research* ., **53**(2): 61-74.
- Quita SM, and Kurdi, LA** (2009) The Role of Honey Bee in Reducing the Mutagenic Effect of Cisplatin in Mice. *Cario International Convention Center.*, **10**: 194-215.
- Quita SM, and Kurdi LA** (2010) Antigenotoxic and Anticytotoxic Effect of Camel Milk in Mice Treated with Cisplatin. *Saudi Journal of Biological Sciences.*, **17**: 159-166.
- Sabry M, Attia, Gouda K, Helal Mohamed F, Abd-Ellah Ahmed M Mansour, and El-Sayed M El-Sayed** (2008) The Effects of Ooral Grape Seed Extract on Cisplatin Induced Cytogenotoxicity in Mice. *Saudi.*