



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية العلوم



التأثير السمي للمستخلصات القلويدية للسرخس *Equisetum arvense* في بعض الخطوط السرطانية

رسالة

مقدمة إلى مجلس كلية العلوم - جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

عبير حبيب احمد

بكالوريوس علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ديالى (2015)

باشراف

ا.م.د. عامر طالب توفيق

ا.د. ابراهيم هادي محمد

2019 م

1440 هـ

المقدمة Introduction

إنّ السرطان من المشاكل الصحية الرئيسية والكبرى في العالم وبعد من المسببات المهمة في زيادة حالات الوفيات بين الأطفال والبالغين، ويحتل المرتبة الثانية للأمراض بعد امراض القلب والشرايين، إذ وصل عدد المصابين بالسرطان الى 18.1 مليون شخص لعام 2018، وقد أظهرت الاحصائيات أن سرطان الثدي الاكثر انتشاراً حيث بلغت نسبته 43 % من مجموع الاصابات يليه سرطان الرئة، القولون، الكبد، البروستات، والمعدة على التوالي (World Health Organization, 2017). على الرغم من وجود العديد من العلاجات له كالعلاج الكيميائي والفيزيائي والجراحي لكنها لم تحقق النتائج المطلوبة ولها اضرار جانبية، لذلك اتجه الباحثون الى ايجاد طرق علاجية جديدة وبديلة من خلال استعمال المصادر الطبيعية كالنباتات والاعشاب الطبيعية الحاوية على كثير من المركبات الكيميائية ذات الفعالية العالية في علاجه (Demark et al., 2015). لقد نالت الأعشاب الطبية اهتماماً كبيراً منذ القدم وذلك لقدرتها الكبيرة على تسكين الألم والشفاء، ولا نزال نعتمد عليها حتى يومنا هذا في صناعة عدد كبير من الادوية لاحتوائها على مركبات كيميائية عديدة تمتلك خواص علاجية وفي الغالب توفر بعض الاعشاب ادوية مأمونة على الرغم من ان بعضها قد ينتج آثاراً جانبية على غرار كل الأدوية، وتتوقف قدرة الدواء العشبي على التأثير في أنظمة الجسم على المكونات الكيميائية التي يحتوي عليها. زاد الاهتمام بالمكونات الفعالة (مركبات الايض الثانوي) بوصفها علاجاً للسرطان، إذ تمتلك تلك المركبات خصائص علاجية تختلف في تأثيراتها في الخلية السرطانية وقد تكون لهذه المركبات فعالية تثبيطية تؤدي الى قتل الخلية الورمية او ايقاف نموها (Cragg et al., 2005). لقد بدأ الباحثون باستخلاص وعزل هذه المواد من النباتات في القرن الثامن عشر ومنذ ذلك الوقت أعدتنا النظر الى الاعشاب وتأثيراتها بدلالة المكونات الفعالة التي تحتويها (Sumit et al., 2014). ان من هذه المركبات التي اثبتت فعاليتها المثبطة لتكاثر الخلايا السرطانية هي القلويدات والتي تعد من أهم وأكثر المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية، إذ تمتاز بسميتها العالية للخلايا السرطانية نتيجة تأثيرها في عدة آليات في الخلية ومنها الانقسام الخلوي او في مرحلة تسبق الانقسام او تحفيز الخلايا السرطانية للدخول في عملية الموت المبرمج. تم الكشف في العراق عن عدد من المستخلصات النباتية التي تمتلك فعالية مضادة للسرطان التي تعتمد بشكل اساس على تراكيز المستخلص ومدة التعريض ونوع الخلايا. فقد اشار (Tawfeeq et al.,

(2012) بأن المستخلص القلويدي لأوراق *Convolvulus scammonia* له القدرة على تثبيط النبيبات الدقيقة لخط كبد الفئران H22 عند تعريضها للمستخلص بتركيز 20 مايكروغرام/مل لمدة 24 ساعة. ووضحت الدراسة التي قام بها (Mohammed and Taha, 2016) ان القلويدات المستخلصة من نبات الوسمة *Isatis tinctoria* لها تأثير مثبت لنمو وتكاثر خلايا الكبد الفاري من خلال تثبيط معامل الانقسام الخلوي عند الطور الاستوائي الانفصالي. وأشارت (Abdullatif et al., 2016) بأن المستخلص القلويدي والكحولي الخام لنبات السبجج *Melia azedarach* تأثير تثبيطي على الخطين السرطانيين HepG2 و SK-GT2 بسبب الأضرار التي تحدث في الغشاء الخلوي والمؤدية الى زيادة نفاذية الاغشية الخلوية. وقد توصلت هذه الدراسات إلى ان لهذه المستخلصات تأثيرات سمية في مختلف أنواع خطوط الخلايا السرطانية مما اعطت تلك النتائج حافزا للبحث عن نباتات محلية اخرى التي ربما تكون ذات كفاءة عالية في التأثير على الخلايا السرطانية وتثبيط انقسامها. ان البحوث الجارية ومنها الدراسة الحالية مازالت تهدف الى اختبار فعالية المستخلصات النباتية القلويدية سعياً ومحاولة لإيجاد علاج ضد مرض السرطان، إذ تم اختيار سرخس ذنب الخيل في هذه الدراسة للكشف عن فعالية هذا السرخس ضد الخلايا السرطانية نظراً لاحتواءه على العديد من المركبات الفعالة بالاستناد الى الدراسات الدوائية التي اثبتت بأنه يمتلك فعالية مضادة للأكسدة، مضادة للميكروبات، مضادة للالتهابات والامراض الجلدية، ومضادات لارتفاع نسبة السكر في الدم ومدر للبول وغيرها (Al-Snafi, 2017). وبسبب تلك الخواص وأهميتها اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير قلويدات هذا السرخس على نمو الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي (الخطوط الخلوية السرطانية) وقد اتبعت الخطوات التالية لتحقيق الهدف:

1. استخلاص القلويدات من سرخس ذنب الخيل *Equisetum arvense*.
2. الكشف عن المكونات الفعالة من الناحية الطبية لسرخس ذنب الخيل التي لديها القدرة على تثبيط الخلايا السرطانية.
3. تقييم الفعالية المضادة للأكسدة Antioxidant للمستخلص القلويدي الخام لسرخس ذنب الخيل باستخدام (DPPH) (2, 2-Diphenyl-1-Picryl-Hydrazyl), 2.
4. الكشف عن تأثير المستخلص القلويدي الخام على الخلايا للمفاوية لدم الانسان في الطور الاستوائي ومقارنتها بالكولجسين.

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى اختبار تأثير المستخلص القلويدي الخام لسرخس ذنب الخيل *Equisetum arvense* على تكاثر الخلايا اللمفاوية لدم الانسان وعلى ثلاثة خطوط سرطانية (خطين خلويين لسرطان الثدي Breast cancer cell lines هما MCF7 و AMJ13 وخط سرطان الكبد (HC) Liver cancer cell line)، فضلاً عن الخط الطبيعي لجنين الفأر Mice Embryo Fibroblast Cell line (MEF). تم الكشف الكيميائي عن بعض المكونات الكيميائية لمستخلص سرخس ذنب الخيل، فظهر ان السرخس يحتوي على مجموعة من المركبات الفعالة مثل القلويدات، الفلافونات، التانينات، التربينات والستيرويدات. درست الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام اختبار (DPPH) 2,2 diphenyl-picryl hydrazyl للمستخلص القلويدي الخام لسرخس ذنب الخيل، وقد أظهرت النتائج امتلاك سرخس ذنب الخيل فعالية للتخلص من الجذور الحرة مماثلة لتلك الفعالية التي يمتلكها حامض الاسكوريك وتعتمد الفعالية على التراكيز المستخدمة، إذ وجد اعلى نسبة تثبيط 94.91% عند التركيز 500 مايكروغرام/مل.

تضمن الاختبار الاول تأثير المستخلص القلويدي الخام على انقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان، إذ عُرضت الخلايا لسلسلة تراكيز محضرة من المستخلص القلويدي لمدة 24 ساعة. وجد ان المستخلص القلويدي ادى الى ايقاف انقسام الخلايا اللمفاوية لدم الانسان في الطور الاستوائي بنسب مختلفة، اذ ازدادت النسبة مع زيادة التركيز وتراوحت نسبة الخلايا المتوقفة في الطور الاستوائي بين 0.56-3.93% للتركيز من 15.1-500 مايكروغرام/مل. والاختبار الثاني تضمن تأثير المستخلص القلويدي الخام على نمو خلايا الخطوط السرطانية MCF7 و AMJ13 و HC والخط الطبيعي MEF باستخدام اختبار السمية الخلوية Cytotoxic assay. أظهرت النتائج وجود تأثير سام عالي على الخلايا السرطانية مقارنة بالخلايا الطبيعية وتعتمد درجة التأثير على تركيز المستخلص ونوع الخلايا. إذ وجد ان الفعالية المضادة للأورام تزداد مع زيادة تركيز المستخلص. كانت أعلى نسبة تثبيط في الخط الخلوي السرطاني MCF7 هي 64.1% بتركيز 500 مايكروغرام/مل واقل نسبة هي 20.07% بتركيز 15.1 مايكروغرام/مل، اما خلايا خط AMJ13 فكانت اعلى نسبة تثبيط هي 79.26% بتركيز 500 مايكروغرام/مل

5. التحري عن السمية الخلوية للمستخلص القلويدي الخام خارج الجسم الحي *in vitro* على ثلاثة انواع من الخطوط الخلوية وهي خطين لخلايا سرطان الثدي MCF7 و AMJ13 وخط خلايا سرطان الكبد HC والخط الطبيعي MEF.
6. دراسة تأثير المستخلص القلويدي الخام على التعبير الجيني للجينات التي لها علاقة بظاهرة مقاومة الخلايا السرطانية لظروف الاجهاد الخلوي وهي الجينات المشفرة لبروتينات الصدمة الحرارية والجينات ذات العلاقة بعملية حث عملية الموت الخلوي المبرمج Programmed Cell Death باستخدام تقنية RT-PCR.
7. دراسة مقدرة تأثير المستخلص القلويدي الخام على تجزئة المادة الوراثية الدنا للخلايا السرطانية.
8. دراسة التغييرات المورفولوجية للخلايا المعاملة بالمستخلص القلويدي الخام باستخدام الصبغات المتفلورة.