Iraqi Journal of Science

تأثير بذور فول الصويا ونترات اليورانيل في ذوي خلايا الطحال لذكور الجرذان

جبار حميد ينزيل الحلفي* ، كوكب سليم القيسي**

* قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد. بغداد– العراق.

** كلية الطب– جامعة النهرين. بغداد– العراق.

الخلاصة

استهدفت الدراسة معرفة تأثير فول الصويا و نترات اليورانيل في النسبه المئويه لذوي الخلايا و التركيب الدقيق والخصائص المظهرية للذوي في الطحال ، قسمت 32 جرذا من ذكور الجرذان البيض غير البالغة الى اربعة مجاميع بحثية بالتساوي كما يلي: مجموعة السيطرة(G1)، والمجموعة المعاملة بنترات اليورانيل (G_2) بتركيز 75 ملغرام/كغم من وزن الجسم عن طريق الفم باستخدام انبوب المعدة، والمجموعة المتغذية بفول الصويا (G_3) بتركيز (20%)، والمجموعة المعاملة بنترات اليورانيل وفول الصويا في ان واحد (G_4) وكما في G2 وG3 على التوالي . استمرت المعاملة لمدة 21 يوما.

اظهرت النتائج حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل النسبة المئوية للخلايا التي تمربمراحل الذوي في الطحال في(G2 و G3 وG4) قياسا بمجموعة السيطرة ، وحدوث انخفاض معنوي ($P<0.05$) في (G_4) قياسا بـ (G_2).كما اظهرت الدراسة، باستخدام المجهر الالكتروني، حدوث زيادة في اعداد الخلايا الطحالية التي تمر بمراحل الذوي المبكرة والنهائية واتصاف غالبيتها بتكاثف المادة الكروماتينية وتجمعها بشكل هلالي قرب الغلاف النووي، فضلا عن عدم انتظام الغلاف النووي وتجزأ المادة الكروماتينية وفقدانها في اعداد من الخلايا في مجموعة (G_2) ، في حين ظهرت غالبية الخلايا الطحالية بالمظهر الطبيعي واعداد اخرى تمر بمراحل الذوي المبكرة والنهائية في المجموعة (G_3) ، وظهرت اعداد من الخلايا وهي تمر بمراحل الذوي المختلفة واخرى ظهرت بالمظهر الطبيعي في المجموعة (G_4). يتضح من نتائج الدراسة الحالية ان لنترات اليورانيل تأثيرات سلبية وان المكونات الفعالة لفول الصويا مثل: الايزوفلافون والجنستين والديادزين لها تأثير فعال في تثبيط الآثار السلبية لنترات اليورانيل في ذوي خلايا الطحال.

EFFECT OF SOYBEAN SEEDS AND URANYL NITRATE ON APOPTOSIS IN SPLEEN IN MALE RATS

Jabber H. Yenzeel Al-Hilfy* , Kawkab S. Al-Kaisy**
*Department of Biology, College of Science,University of Baghdad. Baghdad- Iraq.
** College of Medicine -University of Nahrain. Baghdad- Iraq.

Abstract

The effects of Soybean and Uranyl nitrate on the percentage, ultra structure and morphology of apoptosis in the spleen were investigated. Prepubertal albino male rats were equally divided as follows :control G1, G2 was given intragastrically 75mg / kg / b.w Uranyl nitrate, G3 was fed a diet contains 20% Soybean, and G4 was treated with both Uranyl nitrate and Soybean as in G2 and G3.

The results showed a significant increase ($p<0.05$) in the mean value of percentage of apoptotic cells in the spleen in G2, G3 and G4 in comparison with control group and significant decrease ($p<0.05$) was observed in (G4) in comparison with (G2).

In the study of electron microscope there was an increase in the number of spleenocytes that were in the early and later phases of apoptosis in the (G2) group which were characterized by chromatin condensation and chromatin aggregation in a crescent shape near the nuclear envelope, in addition to that some of these cells were characterized by chromatin fragmentation, irregular nuclear envelope and disappearance of chromatin.

In the (G3) most of spleenocytes were in the normal appearance and some in the early and later phase of apoptosis. While in the (G4) there were numbers of spleenocytes in the normal appearance and others in different phases of apoptosis. From these results we can conclude that the treatment with Uranyl nitrate has a negative effect, and the active components of soybean reflect an important role in the inhibition of these effects on apoptosis in spleen.

المقدمة

ظهرت في الاونة الاخيرة تأثيرات صحية كبيرة لليورانيوم في اعضاء الجسم المختلفة مثل: الكليتين، والعظام، والكبد، والطحال وغيرها (1)، يكون تأثير اليورانيوم في الطحال على الخلايا اللمفاوية، فقد وجد ان التعرض للاشعة المنبعثة من مركبات اليورانيوم المختلفة له تأثير سلبي في الخلايا اللمفاوية في الطحال (٢)، تعد عملية ذوي الخلايا Apoptosis او ما يعرف بالموت المبرمج للخلايا فعالية حيوية وفسلجية مهمة للكائن الحي ، وتمتلك مركبات اليورانيوم تأثيرا مهما في هذه الفعالية بسبب قابليتها الاشعاعية التي تعمل على إحداث الاضرار في المادة الوراثية. وبسبب قابلية ايون اليورانيل على الارتباط بالماده الوراثية واحداث الضرر الذي يتسبب في تحفيز عملية الذوي لغرض التخلص من تلك الخلايا (٣).

يعد نبات فول الصويا غذاءا رئيسا للسكان في مناطق واسعة من العالم ، حيث يعد مصدرا غنيا بالبروتينات والالياف و تمتلك بروتينات فول الصويا وخاصة الايزوفلافون اهمية طبية كبيرة بسبب فعالياته الحيوية المتعددة والمهمة جدا في

علاج العديد من الامراض (٤) . و قد لوحظ ان نبات فول الصويا يحتوي على مركبات مثل : اللوناسين Lunasin ،و اللكتينات Lectins التي تعمل على تحفيز عملية الذوي في العديد من الخلايا الورمية الخبيثة (٥). استهدفت الدراسة معرفة تأثير فول الصويا و نترات اليورانيل في النسبه المئويه لذوي الخلايا و التركيب الدقيق والخصائص المظهرية للذوي في الطحال.

طرق العمل

١ –المادة النباتية

تم الحصول على النبات من الاسواق المحلية ثم حُدد جنسه ونوعه

ب: *Glycine max* (L.) Merrill. نقيت البذور وسُحقت بشكل جيد وحُفظت في مكان جاف لحين استخدامها في التجارب، تألفت العليقة الخاصة الحاوية على فول الصويا

من نخالة الحنطة ٥٠ % ودقيق الحنطة ٢٥ % ودقيق فول الصويا ٢٠ % بديلا للحليب في العليقة الاعتيادية ، فضلاً عن مواد اخرى تشكل نسبة ٥ % مثل الفيتامينات ، وزيت فول الصويا والملح.

٢- حيوانات التجربة

استخدم ٣٢ ذكرا غير بالغ من الجرذان البيض Male Albino rats *Rattus norvegicus* .تراوحت اوزانها بين (١٥٥-١٦٥) غرام ، وبلغت اعمارها ثمانية اسابيع ، وتم اطعامها العليقة الاعتيادية الخاصة بالجرذان Normal rodent pellets وماء الحنفية وبشكل مستمر *ad libitum* وبكميات كافية يومياً.قسمت حيوانات التجربة على اربع مجاميع متساوية وعوملت على النحو الاتي : المجموعة الاولى G1(٨ جرذان) عوملت بوصفها مجموعة سيطرة ، إذ اعطيت المحلول الملحي الفسيولوجي بمقدار ١ مليلتر عن طريق الفم باستعمال انبوب المعدة اربع مرات اسبوعياً،المجموعة الثانية G2(٨ جرذان) جُرعت بنترات اليورانيل سداسية الماء [UN(NO3)2.6H2O] بجرعة مقادرها ٧٥ ملغرام / كغم من وزن الجسم (٦)، (بعد اذابتها في ١ مللتر من المحلول الملحي الفسيولوجي) عن طريق الفم باستعمال انبوب المعدة وبمعدل اربع مرات اسبوعياً،المجموعة الثالثة G3 (٨ جرذان) غُذيت ببذور نبات فول الصويا بنسبة ٢٠ % من العليقة اليومية(٧)، عن طريق تغذيتها بالعليقة الخاصة الحاوية على بذور فول الصويا بمقدار ٢٥ غراما يومياً واخيرا المجموعة الرابعة G4 (٨ جرذان) وجرعت بنترات اليورانيل بجرعة مقدارها ٧٥ ملغرام / كغم من وزن الجسم ، وفي نفسه الوقت غذيت الجرذان بفول الصويا بنسبة ٢٠ % من الطعام اليومي بمقدار ٢٥ غراما يومياً. استمرت المعاملة لمدة ٢١ يوما .

٣- تشريح الحيوانات

بانتهاء مدة المعاملة شرحت الجرذان لغرض استئصال الطحال. ووضع جزء منه في انبوبة تحوي على المحلول المثبت كارنوفسكي، وذلك تمهيداً لعمل عينات الفحص النسجي الخاص بالمجهر الالكتروني النافذ TEM ، في حين ثبت الجزء المتبقي في محلول ١٠ % فورمالين وهيأت عينات الفحص النسجي الخاص بالمجهر الضوئي.

٤- فحص مناطق تنظيم النوية: Ag-NOR Examination

تم استخدام فحص Ag-NOR لتقييم عملية ذوي الخلايا في الطحال ، إذ اختيرت الشرائح الزجاجية المعدة للفحص باستخدام المجهر الضوئي ولونت بملون الفضة Ag-NOR Silver nitrate stain (8).واستخرجت النسبة المئوية للنوى التي تحوي على نقاط الـ Ag-NOR السوداء لغرض تحديد النسبة المئوية للخلايا التي تمر بمراحل الذوي (9).

٥- تحضير العينات للدراسة بالمجهر الالكتروني النافذ

اخذت عينات الطحال المستأصلة من الحيوانات المعاملة بعد تشريحها وهيئت للتحضير لغرض الفحص بـ TEM (10، 11) .

٦- فحص التراكيب الدقيقة وذوي الخلايا

تم فحص وتصوير المقاطع الدقيقة السمك Ultra thin sections التي حضرت باستخدام المجهر الالكتروني النافذ ، لغرض دراسة الخصائص المظهرية للذوي بوساطة فحص التراكيب الدقيقة.

٧- التحليل الاحصائي

حللت النتائج إحصائيا (12).

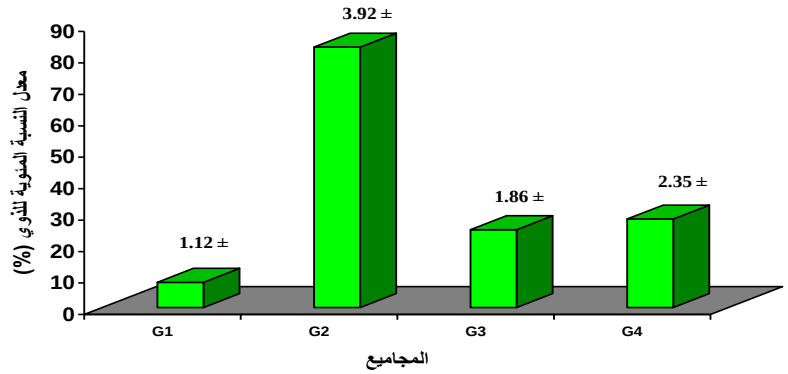
النتائج

١- دراسةالذوي في خلايا الطحال باستخدام المجهر الضوئي

يتضح من ملاحظة الشكل (١) التاثير السلبي الشديد للمعاملة بنترات اليورانيل في خلايا الطحال ، إذ لوحظ زيادة معنوية ($P<0.05$) في النسبة المئوية للخلايا الطحالية التي تمر بمراحل الذوي عند القياس بمجموعة السيطرة. كما تبين من ملاحظة النتائج حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل النسبة المئوية لخلايا الطحال التي تمر بمراحل الذوي في المجموعة المتغذية بفول الصويا وكذلك في المجموعة المعاملة بنترات اليورانيل والمتغذية بفول الصويا في آن واحد عند القياس بمجموعة السيطرة ، وحصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في المجموعة الاخيرة (G4) عند القياس بالمجموعة (G2).

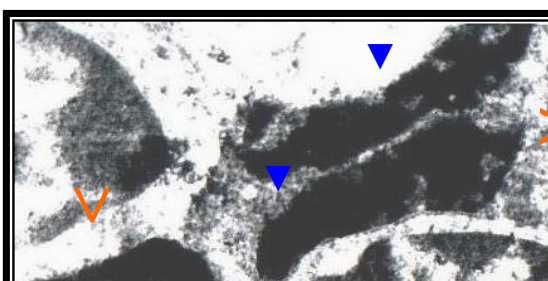
٢- دراسة الذوي في خلايا الطحال باستخدام المجهر الالكتروني

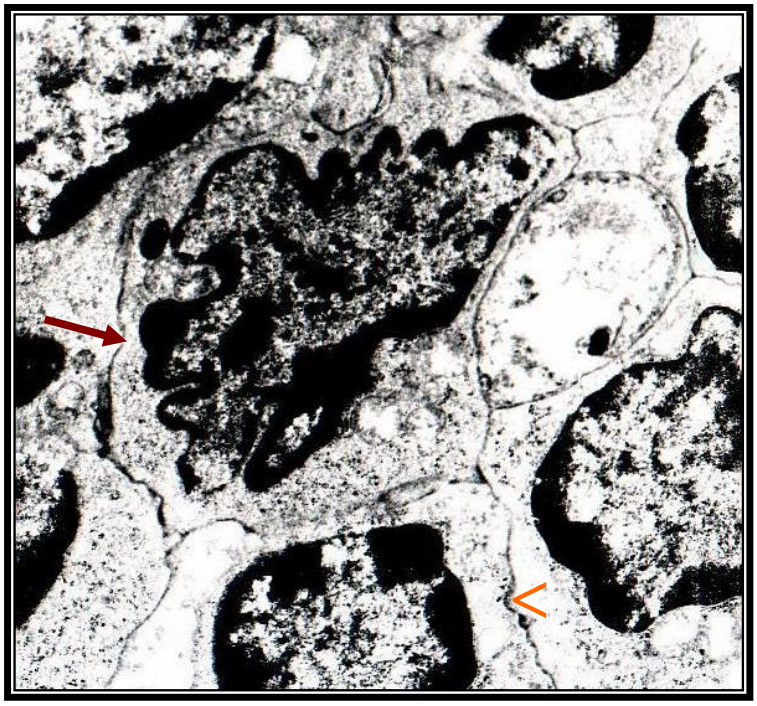
اظهرت نتائج الفحص بالمجهر الالكتروني لنسيج الطحال في مجموعة حيوانات السيطرة وجود اعداد من الخلايا الطحالية تمر بمراحل الذوي المبكر ، كما لوحظ وجود الخلايا الطحالية الطبيعية الشكل (٢). وتشير النتائج الموضحة في الاشكال (4،3) الى وجود مراحل مختلفة من ذوي الخلايا الطحالية ، إذ اتصفت قسم من الخلايا بتجمع الكروماتين (بكثافة الكترونية عالية) على شكل هلالي. وتشير هذه المرحلة الى المراحل النهائية من مراحل الذوي ، ومن جانب اخر ظهرت بعض الخلايا الطحالية وهي تمر بمرحلة تجزأ المادة الكروماتينية Fragmentation الشكل (٣) وهي مرحلة اخرى من مراحل الذوي ، كما ولوحظت بعض الخلايا التي تتصف بخلو نواها من المادة الكروماتينية ، فضلاً عن عدم انتظام غلافها النووي ، إذ ظهرت نوى بعض الخلايا بغلاف نووي يحتوي على اخاديد Grooves الشكل (٤) في حين اتصفت نوى بعض الخلايا بغلاف نووي ذو امتدادات نحو الخارج Evagination الشكل (٣) . وفي المجموعة المتغذية بفول الصويا فقد اظهرت النتائج وجود اعداد من الخلايا الطحالية تمر بمراحل الذوي المبكر ، اما باقي الخلايا فاتصفت بمظهر طبيعي الشكل (٥). وفيما يخص المجموعة المعاملة بنترات اليورانيل وفول الصويا في آن واحد فقد اظهرت النتائج وجود اعداد من الخلايا التي تمر بمراحل الذوي المبكر ، فضلاً عن وجود اعداد من الخلايا الطحالية ظهرت بمظهر طبيعي.تشير النتائج الموضحة في الشكل (٦) الى وجود اعداد من الخلايا الطحالية تتصف بزيادة الكثافة الالكترونية للمادة الكروماتينية التي ظهرت متوزعة قرب الغلاف النووي ، ولوحظ وجود العضيات الخلوية في السايتوبلازم ، وتعد هذه المرحلة من المراحل المبكرة للذوي ، اما الخلايا المتبقية فظهرت بمظهر طبيعي على الرغم من وجود اعداد قليلة جداً من الخلايا الطحالية التي اتصفت نواها بعدم انتظام غلافها النووي حيث تميز باندلاقه الى الخارج Evagination،وتشير النتائج الموضحة في الشكل (٧) الى وجود اعداد من الخلايا الطحالية تمر بمراحل الذوي المبكر ، فضلاً عن وجود خلية اتصفت نواتها باحتوائها على غلاف تكثر فيه الاخاديد.



شكل (1) يبين تأثير نترات اليورانيل وفول الصويا في النسبة المئوية للخلايا التي تمر بمراحل الذوي في الطحال في ذكور الجرذان.

ويمثل : G1 مجموعة السيطرة ، و G2 المجموعة المعاملة بنترات اليورانيل ، و G3 المجموعة المتغذية بفول الصويا ، و G4 المجموعة المعاملة بنترات اليورانيل والمتغذية بفول الصويا في ان واحد





الشكل ٧: يبين مقطعا من نسيج الطحال لجرذ غذي بفول الصويا وعومل بنترات اليورانيل في ان واحد ، تظهر فيه خلية تمر بمراحل الذوي المبكر (<) ، خلية تحتوي على نواة بغلاف نووي غير منتظم (←) . وبقوة تكبير 8700 X (خلات اليورانيل وسترات الرصاص).

المناقشة

١- دراسة الذوي في خلايا الطحال باستخدام المجهر الضوئي

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول ارتفاع معنوي في النسبة المئوية للخلايا الطحالية التي تمر بمراحل الذوي بعد المعاملة بنترات اليورانيل قياسا بالسيطرة ، ومن قراءتنا للدراسات السابقة في هذا المجال نجد ان لمركبات اليورانيوم تأثيرا محفزا لعملية الذوي في الطحال(13،14) ويمكن تفسير ارتفاع نسبة الذوي معنوياً من خلال طبيعة الخلايا المكونة لنسيج الطحال وحساسيتها الشديدة للاشعاعات التي تتسبب في حدوث الانحرافات الكروموسومية فيها ، ومن ثم تحفز عملية الذوي فيها(15) ، ومع ذلك فهناك اسباب لا يمكن اغفالها تتمثل في حدوث كرب الاكسدة وتكون الجذور الحرة بسبب المعاملة بنترات اليورانيل مما يؤدي الى تحفيز وزيادة الذوي . كما ويتبين من النتائج حدوث ارتفاع معنوي في النسبة المئوية للخلايا الطحالية التي تمر بمراحل الذوي بعد التغذية بفول الصويا قياسا بالسيطرة ، ويحتمل ان يعزى ذلك الى وجود بعض المكونات في فول الصويا تعمل على تحفيز عملية الذوي عند تناولها باستمرارً.

من ملاحظة النتائج ايضا يتضح حصول ارتفاع معنوي في النسبة المئوية للخلايا الطحالية التي تمر بمراحل الذوي في مجموعة الحيوانات المعاملة بنترات اليورانيل والمتغذية بفول الصويا في آن واحد قياسا بالسيطرة ، وحدوث انخفاض معنوي عند القياس بالمجموعة المعاملة بنترات اليورانيل . وهنا يجدر بنا التوقف والاشارة الى ان نسبة الذوي كانت اقل مما هي عليه في مجموعة الحيوانات المعاملة بنترات اليورانيل وقد تلعب مكونات الصويا مثل الجنتسين دوراً مهماً في تخفيض هذه النسبة عن طريق اقتناص الجذور الحرة المتكونة بفعل تاثيرات نترات اليورانيل مما يؤدي الى تثبيط الفعل الحاصل لتأثير نترات اليورانيل وتقليل النسبة المئوية للذوي.

٢-دراسة الذوي في خلايا الطحال باستخدام المجهر الالكتروني

اظهرت النتائج ان غالبية الخلايا تمر بمراحل الذوي النهائية بعد المعاملة بنترات اليورانيل ، مما يدل على التأثير السلبي لنترات اليورانيل في خلايا الطحال واحداثها لاضرار عديدة حفزت الخلايا الطحالية للمرور بمراحل الذوي. وقد لوحظ تجمع الكروماتين على شكل هلالي في غالبية نوى الخلايا وتمثل هذه المراحل النهائية من الذوي (16).

كما لوحظت بعض نوى الخلايا وهي تمر بمرحلة تجزأ المادة الكروماتينية فيها ، وهي مرحلة اخرى من مراحل الذوي (17) . بينما ظهرت بعض نوى الخلايا الطحالية وهي تتصف بخلوها من المادة الكروماتينية ، فضلاً عن عدم انتظام غلافها النووي واحتوائه على اخاديد. وفي خلايا اخرى ظهر بشكل غير منتظم ، ويعد ذلك من المظاهر التي تشاهد في الخلايا السرطانية ، إذ تتسبب مركبات اليورانيوم في حدوث السرطان في الخلايا اللمفاويه ،كما اشارت الى ذلك دراسات عديدة (18).

ومن ملاحظة نتائج الفحص لنسيج الطحال في مجموعة الحيوانات المتغذية بفول الصويا ظهر ان غالبية الخلايا الطحالية تتصف بالمظهر الطبيعي مع وجود اعداد من الخلايا التي تمر بمراحل الذوي المبكر. وهذا ما يدعو الى الاستنتاج في وجود علاقه لمكونات فول الصويا في تحفيز النسيج المكون للطحال والمحافظة على الخلايا الطحالية ، وفي المجموعة المعاملة بنترات اليورانيل وفول الصويا معاً، فقد اظهرت النتائج ظهور غالبية الخلايا الطحالية بالمظهر الطبيعي مع ظهور اعداد من الخلايا ،وهي تمر بمراحل الذوي المبكرة والنهائية . ويمكن الاشارة هنا الى الفعل التحفيزي لمكونات فول الصويا في الاسراع في عملية الاصلاح الخلوي من تثبيط فعل نترات اليورانيل الذي يتسبب في حدوث الذوي عن طريق تكوين العوامل المحفزة للذوي ، كما لوحظ ان بعض نوى الخلايا الطحالية تتصف بعدم انتظام غلافها النووي واندلاقه الى الخارج . وتعد هذه من الصفات التي يمكن ملاحظتها في الخلايا السرطانية.

References

1. Domingo, J. L.; Llobet , J. M.; Tomás , J. M. and Corbella , J., **1987**. Acute toxicity of Uranium in rats and mice. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **39**: 168 – 174.
2. Lin, I. H.; Hau, D. M.; Chen, W. C. and Chen, K. T., **1996**. Effects of low dose gamma-ray irradiation on peripheral leukocyte counts and spleen of mice. *N. Engl .J. Med.*, **109**(3): 210 – 214.
3. Moss, M. A., **1985**. Chronic low level Uranium exposure in drinking water – clinical investigation in Nova Scotia. M. Sc. Thesis. University of Dalhousie, Halifax.32-38.
4. Venter, C. S., **1999**. Health benefits of Soybeans and Soy products: areview. *J. Fam. Ecol. Sci.*, **27**: 24 – 33.
5. deMejia, E. G. ; Bradford, T. and Hasler, C., **2003**. The anticarcinogenic pot-ential of Soybean lectin and lunasin. *Natur. Rev.*, **61**: 239 – 246.
6. Morvai,V. ; Szakmary, E. ; Tatrai, E. Ungavy, G., **2004**. Hemodynamic effect of Uranyl Acetate in male rats. *CEJOEM.*, **10**(2):149 – 157.
7. Tovar, A. R. ; Murguia, F. ; Cruz, C. ; Hernandez, P. R. ; Aguillar, S. A. ; Pedraza, C. J. ; Correa, R. R. and Torres, N., **2002**. A soy protein diet alters hepatic lipid metabolism, gene expression and reduces serum lipids and renal fibrogenic cytokins in rats with chronic nephritic syndrome. *J. Nutr.*, **132**(9):2562 –2569.
8. Ploton, D.; Menager, M.; Jaennesson, P.: Himber, G.; Pigeon, F. and Adent, J. J., **1986**. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer regions at the optical level. *J. Histochem.*,**8**:5 – 14.
9. Xie, X.; Clausen, O. P. F.; Sudbo, J. and Boysen, M., **1997**. Diagnostic and prognostic value of NOR in normal epithelium, dysphasia, and SCC of the oral cavity. *Cancer,* **79**: 2200 – 8. 34-
10. Glauert, A. M., **1972**. Practical Methods in Electron Microscopy (Vol. 1).North - Holland Publis-hing Company , Amsterd-am , New York and Oxford. 234-256.
11. Hayat,M.A., **1986**.Basic Techniques for Transmission Electron Microscopy. Acad. Press. Inc., Hacourt, Brace, Jovanovich. San Diego, New York, Berkeley, Boston, London, Sydney, Tokyo and Toronto. pp. :226– 231.
12. Duncan, R. C.; Knapp, R. G. and Miller, M. C., **1983**. Introdutory Biostatistics of the Health Sciences. A Wileg Medical

Publications, John Wiley and Sons, London. pp. 161 – 179.

13. Zhou, H. R. ; Harkema, J. R.; Yan, D. ; Roth, R. A. and Pestka, J.J., **2000**. Lipopolysaccharides and the trichothecene vomitoxin apoptosis in murine lymphoid organs. *Toxicol. Sci.*, **53**(2): 253 – 63.
14. Kitada, S.; Krajewski, S.; Miyashita, T., **1996**. Radiation induces upregul-ation of Bax protein and apoptosis in radiosensitive cells *in vivo*. *Oncogene*, **12**: 187 – 192.
15. Fajgelj, A.; Horrat, D. and Skrk, J., **1997**. Chromo-some aberrations induced in human lymphocytes by U-235 Fission neutron. *Strahlenther Onkol.*, **173**(2): 91 – 97.
16. Maclellan, W. R. and Schneider, M. D. ,**1997**. Death by design programmed cell death in cardiovascular biology and disease. *Circ*. *Res*., **81**: 137.
17. Harbor, C. S., **1991**. Apoptosis; The molecular basis of the cell death. Harbor Press. 29.
18. Dupree, E. A. ; Watkins, J. P.; Ingle, J. N. ; Wallace, P. W.; West, C. M. and Tankersley, W. G., **1995**. Uranium dust exposure and lung cancer risk in four Uranium processing operations. *Epidemiology*, **6**(4):730–735.