مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (18) العدد (2) – (2018)
ISSN-1813-1646

دراسة التأثيرات السمية الوراثية والخلوية وتقدير تلف المادة الوراثية للعقار Ivermectin في نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض *Mus musculus*

وجدي صبيح صادق* ويحيى جرجيس سلمان وزينب خورشيد رشيد[1]*****

*كلية العلوم / جامعة تكريت **كلية الطب / جامعة كركوك ***الكلية التقنية – كركوك / الجامعة التقنية الشمالية

الخلاصة

الكلمات المفتاحية:
السمية الوراثية، السمية الخلوية، ايفرمكتين، تقدير النواة الدقيقة، تقدير الشذوذ الكروموسومي، تقنية تقدير الهالة.

للمراسلة:
زينب خورشيد رشيد
البريد الالكتروني:
zaynabkhorsheed@yahoo.com

الاستلام: 17 / 4 / 2017
القبول: 13 / 9 / 2017

تم تقدير التأثيرات السمية الوراثية والخلوية للمضاد الطفيلي ايفرمكتين(Ivermectin(IVM في نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض *Mus musculus* بوساطة اختبار تقدير النواة الدقيقة(Micronucleus test(MN في كريات الدم الحمر غير الناضجة متعددة التلوين Polychromatic Erythrocytes(PCEs) وتحليل كروموسومات الطور الاستوائي لتقدير الشذوذ الكروموسومي Chromosomal aberration analysis وتم تقدير تلف الدنا DNA بوساطة تقنية تقدير الهالة Comet assay. تمت تجريع ذكور الفئران السويسرية البيض فمويا بجرعات منفردة هي 0.4 , 0.6 و 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم، بينما اعطيت مجموعة السيطرة السالبة الماء المقطر. وأظهرت النتائج انخفاضا في متوسط مجموع كريات الدم الحمر غير الناضجة في نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض في المجاميع المعاملة بالجرعات 0.4 , 0.6 و 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم، وكانت اقل قيمة لها عند الجرعة 0.6 ملغم/ كغم من وزن الجسم($P\leq 0.01$)، كما وجد ارتفاعا معنويا في متوسط مجموع النوى الدقيقة في المجاميع المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة($P\leq 0.01$). كما اظهرت النتائج أن للعقار IVM تأثير انيوجينيAnugenic وكلاستوجينيClastogenic في خلايا نقي العظم في ذكور الفئران السويسرية البيض، اذ بينت نتائج الدراسة حصول ارتفاع معنوي في قيمة متوسط مجموع الشذوذ الكروموسومي العددي (التعدد المجموعي الناقص والتعدد المجموعي الكامل) ($P\leq 0.05$)، و سجلت اعلى قيمة لمتوسط مجموع الشذوذ الكرموسومي التركيبي (مع الفجوات وبعد استبعادها) في المجموعة المعاملة بالجرعة 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم($P\leq 0.01$). واظهرت نتائج تقنية تقدير الهالة Comet assay ان المعاملة بالايفرمكتين تسببت في حث تلف المادة الوراثية، اذ ارتفع متوسط عدد الخلايا ذات الدنا المتضرر في نقي عظام ذكور الفئران السويسرية البيض المعاملة بالجرعتين 0.6 و0.8 ملغم\ كغم من وزن الجسم مستويات معنوية عن مجموعة السيطرة السالبة($P\leq 0.01$). تشير نتائج الدراسة الحالية ان للايفرمكتين تأثيرات سامة وراثيا وخلويا في الخلايا الجسمية لذكور الفئران السويسرية البيض. وتوصي الدراسة باجراء المزيد من الدراسات للكشف عن السمية الوراثية والسمية الخلوية للعقار في نماذج حيوانية اخرى باستخدام مؤشرات وراثية خلوية اخرى.

The Study of Genotoxic and Cytotoxic Effects and DNA Damage by Ivermectin in Bone Marrow of Male White Swiss Mice *Mus musculus*

Wajdi Sabeh Sadek* , Yahya Jirjees Salmanand Zaynab Khorsheed Rasheed*****
*College of Science/Tikrit University **College of Medicine/Kirkuk University
***College of Technology-Kirkuk/ Northern Technical University

ABSTRACT

Keywords:
Genotoxicity , Cytotoxcity, Ivermectin, Micronucleus test, Chromosome aberration analysis ,Comet assay.

Corresponding Author:
Zaynab Kh. Rasheed

In this study the Genotoxic and Cytotoxic effects of the anti-parasites Iverrmectin (IVM) in bone-marrow of male white swiss mice *Mus musculus* were evaluated using the cytogenetic endpoints: Micronucleus test (MN) in Polychromatic Erythrocytes (PCEs), Chromosome aberration analysis in somatic cells and molecular cytogenetic represented by Single cell gel electrophoresis (Comet assay). The doses 0.4. 0.6 and 0.8 mg/kg.body weight . were orally administrated to the mice of treated groups, negative control

[1] البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثالث

E-mail: zaynabkhorsheed@yahoo.com
Received: 17/4/2017
Accepted: 13/9/2017

group were given distelled water. The results showed that IVM induced significant decrease in the mean of polychromatic erythrocytes and the lowest value was recorded at the dose 0.6 mg/ kg. b.wt.(P≤ 0.01) and significant increase in the mean of micronuclei were induced by the three doses of drug (P≤ 0.01). IVM induced both anuegenic and clastogenic effects in bone marrow of male white mice, The results showed a significant increase in means of numerical chromosome aberrations (anueploidy and polyploidy) (P≤ 0.05), the highest mean of structural chromosome aberration (with and without gabs) was recorded in mice treated with 0.8 mg/ kg. b.wt. (P≤ 0.01) . Oral treatment of white mice with IVM induced a significant DNA damage in bone marrow cells, which revealed by comet assay results, the mean of damaged bone marrow cells in mice treated with doses 0.6 and 0.8 mg/ kg. b.wt. were different significantly when compared with negative control(P≤ 0.01). Results of current study revealed that IVM have genotoxic and cytotoxic effects on somatic cells of male white mice. the study recommend studying the genotoxicity and cytotoxcity of IVM using other animal models by other cytogenetic endpoints.

المقدمة:

يستخدم عقار الايفرمكتين ضد العديد من الاصابات الطفيلية في الانسان والماشية. وهو مركب مكون من الماكرولاكتونات الحلقية المعزولة من الاستينومايسيتينات *Streptomyces avermetilis*. ويوصف كعلاج فعال لداء عمى النهر وداء الفيل(Ottesen و Campbell ، 1994 ؛ Crump و Omura، 2011). ويعمل الايفرمكتين كعامل مناهض للناقل العصبي γ Gamma amino byutric acid (GABA)-الذي يتوسط نقل الاشارات المثبطة من العصبونات البينية الى العصبونات الحركية في الحبل العصبي البطني في الطفيليات(Pony و Wang، 1980؛ Mellin وآخرون، 1983). يحفز الايفرمكتين اطلاق GABA في مناطق ما قبل الوصلة العصبية وزيادة ارتباط GABA مع مستلماته في مناطق ما بعد الوصلة العصبية، فتبقى قنوات الكلورايد مفتوحة في الوقت الذي من المفترض ان تكون فيها مغلقة فتصبح الخلية المستلمة غير قادرة على تسلم الاشارات والنبضات العصبية فيتعطل مرور الاشارات الكهربائية عبر الوصلات العصبية مؤدية الى شلل الطفيلي وموته (Pony وآخرون، 1980). بين Molinari وآخرون (2009) ان التركيز 50 مكغم/ مل من الايفرمكتين قد تسبب في حث كسور في شريط الدنا وارتفاع في تكرار الخلايا الشاذة في مزرعة خلايا مبيض الهامستر الصيني، وهذا يعد من مظاهر السمية الوراثية للعقار. فضلا عن ظهور بطئ في توالي دورة الخلية وانخفاض دليل التضاعف عند تركيز 25 مكغم/ مل والتي تشير الى مؤشرات السمية الخلوية، اي ان العقار Ivermectin يسبب سمية وراثية وسمية خلوية في خلايا الثدييات خارج الجسم. نظرا لقلة الدراسات في هذا المجال صممت الدراسة الحالية بهدف دراسة التأثيرات السمية الوراثية والسمية الخلوية للعقار ايفرمكتين في الخلايا الجسدية للثدييات داخل الجسم الحي باستخدام مؤشرات الوراثة الخلوية والوراثة الخلوية الجزيئية.

المواد وطرائق العمل:

أنجزت الدراســـة الحالية في قســـم تقنيات البيئة والتلوث/ الكلية التقنية – كركوك، ومركز التقانات الاحيائية/ جامعة النهرين– بغداد.

الحيوانات المختبرية:

استخدمت في الدراسة الحالية 70 من ذكور الفئران السويسرية البيض *Mus musculus*، بعمر يتراوح بين 8 – 12 اسبوعا، وتتراوح اوزانها بين 20– 30 غم، تم تجهيزها من جامعة هولير الطبية. كما تم حفظ الحيوانات تحت الظروف المثلى من درجة الحرارة والرطوبة وتم تزويدها بالعليقة المحضرة والماء النقي.

المواد الكيمائية المستخدمة في التجربة:

عقار الايفرمكتين Ivermectin ، محلول فموي 0.8 ملغم/ مللتر، مجهز من Inter- Chemie, Netherland، عقار الميثوتركسيت Methotrexate(MTX)، تم تحضير هذا المحلول بإذابة 2.5 ملغم من عقار ميثوتركسيت (اقراص جاهزة من Ebewepharma ,Austria) في 1 مللتر من الماء المقطر وحفظ في الثلاجة بدرجة 4 مئوية وعد هذا المحلول محلول خزين. تم تجريع الحيوانات فمويا بعد حساب الجرعات المعدلة لكل تجربة حسب جداول(Paget و1964 Barnes).

تصميم التجارب:

اختبار تقدير النوى الدقيقة:

5 فئران للسيطرة الموجبة MTX، 5 فئران للسيطرة سالبة ماء مقطر،15 فأرا لمجاميع المعاملة بالجرعات 0.4, 0.6 و 0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم IVM

اختبار تحليل كروموسومات الطور الاستوائي:

5 فئران للسيطرة الموجبة MTX، 5 فئران للسيطرة سالبة ماء مقطر،15 فأرا لمجاميع المعاملة بالجرعات 0.4, 0.6 و 0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم IVM

تقنية تقدير الهالة:

5 فئران للسيطرة الموجبة MTX، 5 فئران للسيطرة سالبة ماء مقطر،10 فأرا لمجاميع المعاملة بالجرعتين 0.6 و 0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم IVM.

اختبار تقدير النوى الدقيقة في كريات الدم الحمر غير الناضجة في نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض:

تمت التضحية بالحيوانات بفصل الفقرات العنقية بعد 18 ساعة من وقت التجريع لمجاميع السيطرة السالبة والموجبة والمعاملة بالايفرمكتين و أُجري الاختبار حسب الطريقة التي وصفها Schmid (1975)، فحصت الشرائح المحضرة بوساطة المجهر الضوئي الاعتيادي وتحت قوة 40X وتم حساب 4000 خلية دموية لكل حيوان والتحري عن وجود خلايا PCEs ثم حساب اعداد MNPCEs والنوى الدقيقة MN.

اختبار تحليل كروموسومات الطور الاستوائي في خلايا نقي العظم للفئران البيض:

تمت التضحية بالحيوانات بفصل الفقرات العنقية بعد 22 ساعة من وقت التجريع لمجوعات السيطرة السالبة والموجبة ومجموعات المعاملة بالايفرمكتين وحقنت الحيوانات بالكولجسين 1 ملغم / كغم من وزن الجسم داخل الخلب قبل ساعتين من التضحية ثم أجري الاختبار وفق البروتوكول الموصوف في (Brusick، 1980).

تقدير تلف الدنا في خلايا نقي العظم في ذكور الفئران السويسرية البيض باستخدام تقنية تقدير الهالة Comet assay:

تمت التضحية بالحيوانات بفصل الفقرات العنقية بعد 24 ساعة من وقت التجريع وإجريت الاختبار طبقا للبروتوكول الموصوف بوساطة (Tice وآخرون، 2000).

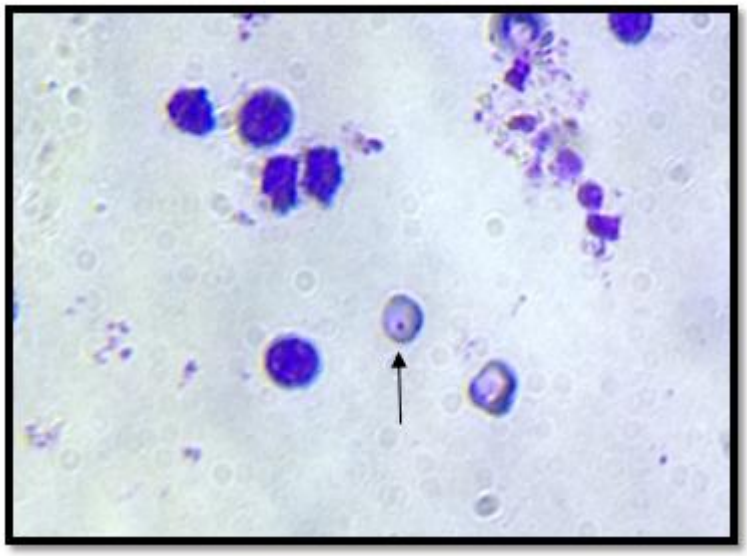
التحليل الأحصائي:

أُستخدم برنامج الحقيبة الإحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package of Social Science [SPSS] في تحليل البيانات احصائيا أُستخدم الاختبار التائي (t-test) عند مستوى احتمالية $P\leq 0.05$ و $P\leq 0.01$.

النتائج و المناقشة:

اختبار تقدير النوى الدقيقة:

يبين الشكل (1) و الجدول (1) النتائج المتحصلة من مجموعة السيطرة السالبة ومجموعة السيطرة الموجبة والمجموعات المعاملة بالايفرمكتين بالجرعات 0.4 ، 0.6 و 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم.



شكل (1) : كرية دم حمراء غير ناضجة تحوي نوى الدقيقة MNPCE داخل نقي عظم لفأر من مجموعة المعاملة بالايفرمكتين Maygrünwald + Gemsa stain 100X

جدول (1) : النوى الدقيقة في خلايا نقي العظم لذكور الفئران السويسرية البيض بعد المعاملة بالجرع المختلفة من الايفرمكتين والسيطرة السالبة والسيطرة الموجبة

*1.56 ± 45.60	**5.39 ± 45.60	** 25.90 ± 819.40	5.02 ± 4009.00	Methotrexate 2.5 mg/kg.
** 6.56 ± 47.80	* 6.69 ± 47.60	** 31.42 ± 429.00	22.50 ± 4015.60	Ivermectin 0.4 mg/kg.
**4.43 ± 82.40	**4.43 ± 82.40	**62.01 ± 103.00	16.96 ± 4018.20	Ivermectin 0.6 mg/kg.
**5.46 ± 122.20	**5.46 ± 122.20	** 60.50 ± 596.00	15.22 ± 4009.00	Ivermectin 0.8 mg/kg.

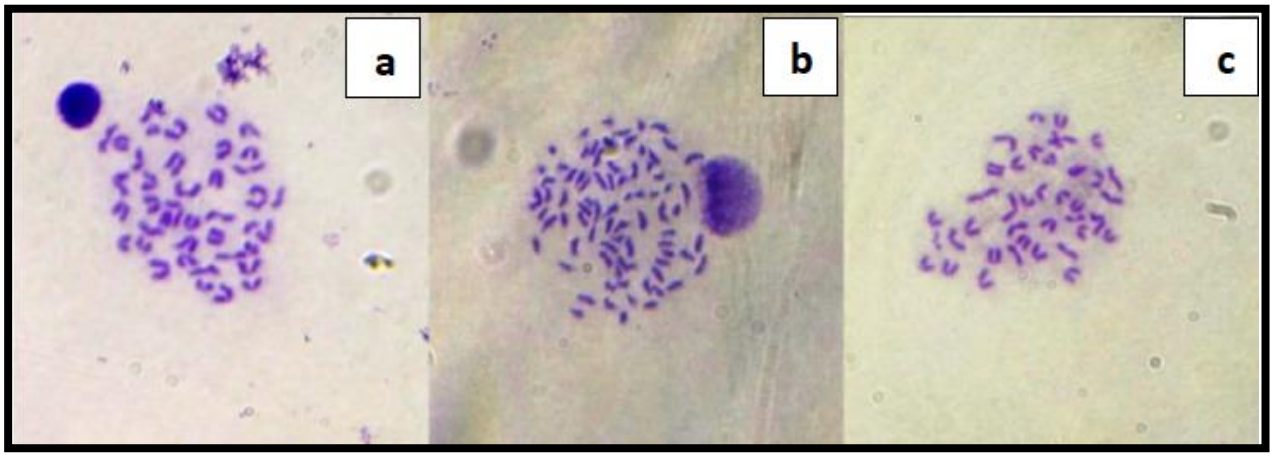
*** معنوي عند مستوى0.01 * معنوي عند مستوى0.05 (Paired sample T- test)**

يتبين من الجدول(1) حصول انخفاض معنوي في متوسط مجموع كريات الدم الحمر غير الناضجة PCEs في نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض في المجاميع المعاملة بالايفرمكتين وكانت اقل قيمة لها عند الجرعة 0.6 ملغم/ كغم من وزن الجسم. ويمكن تفسير هذه النتائج الى وجود تأثير سمي خلوي للعقار ايفرمكتين تمثل في انخفاض اعداد كريات الدم الحمر غير الناضجة في نقي العظم بسبب فاعليته المثبطة لجهاز التخليق الدموي Heamatopieotic system، وقد تمت الاشارة الى مثل هذه التأثيرات السمية الخلوية للعقار على جهاز التخليق الدموي في نقي العظم في التذييات (Sweify وآخرون، 2015). كما اظهرت الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي في متوسط مجموع النوى الدقيقة MNs في المجاميع المعاملة بالجرعات 0.4، 0.6 و 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم من العقار بعد 18 ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة و تتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه El-Ashmawy وآخرون(2011)، اذ اشاروا الى تكون النوى الدقيقة في خلايا نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض بعد 18 ساعة من التجريع الفموي للايفرمكتين. ويرى Matter وGrauwiler (1974) بأن معدل تكرار الخلايا الحاوية على النوى الدقيقة عقب التعرض الكيمائي يعد مؤشرا لنشاط كلاستوجيني. وبما ان النوى الدقيقة قد تنشأ ايضا من الكروموسومات المتخلفة اثناء الانقسام الخيطي

نتيجة لفقدان اتصالها بالمغزل فان اختبار النوى الدقيقة يكون قادر على تعيين الكيميائيات التي تسبب خلل في وظيفة المغزل مثل الكولجسين وسموم المغزل ذات العلاقة (Adler،1984). وان النتائج الموجبة للفحص بحسب Krishna و Hayashi (2000) تدل على ان مادة الاختبار المستعملة قادرة على حث تكوين النوى الدقيقة تحت ظروف الاختبار نتيجة احداث تلف كروموسومي (فعالية كلاستوجينية) و/ أو تضرر في المعقد المايتوزي (فعالية انيوجينية).

اختبار تحليل كروموسومات الطور الاستوائي في خلايا نقي العظم:

يظهر الشكل (2) ان المعاملة الفموية للايفرمكتين لذكور الفئران السويسرية البيض تسببت باحداث تشوهات كروموسومية عددية بشكليها Anueploidy و Polyploidy في خلايا نقي العظم, ويتبين من نتائج الجدول **(2)** حصول ارتفاع معنوي في متوسط مجموع التعدد الكرموسومي المجموعي الناقص والتعدد الكروموسومي المجموعي الكامل للمجاميع المعاملة بالايفرمكتين مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة



الشكل (2) كروموسومات الطور الاستوائي لخلايا نقي عظم الفئران السويسرية البيضاء من مجموعة السيطرة السالبة ومجموعة المعاملة بالايفرمكتين يحوي شذوذات كروموسومية عددية 100X .Giemsa n=40 ، a: كروموسومات طبيعية anueploidy n=39 **:c polyploidy :b n=40**

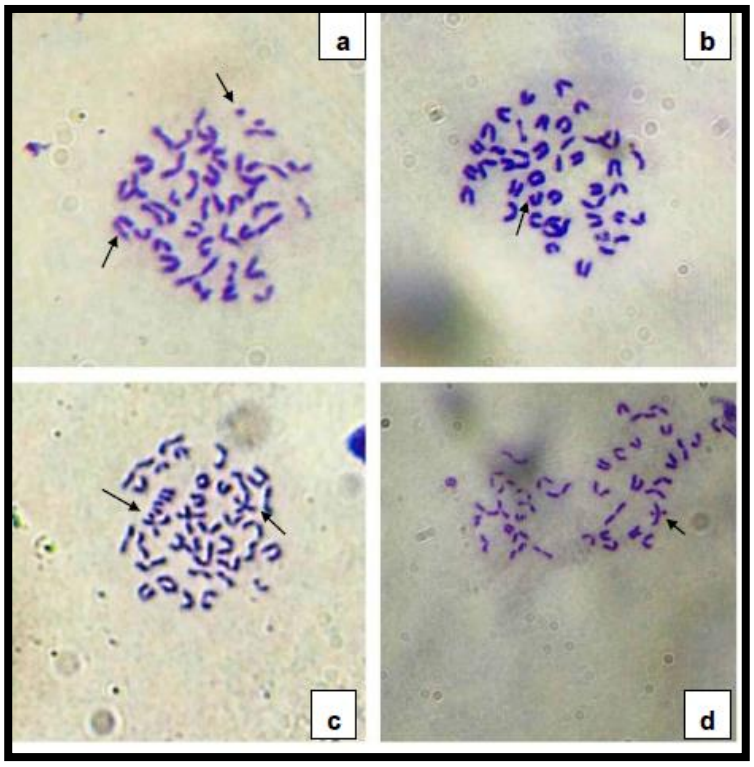
جدول (2) الشذوذ التركيبي والعددي في خلايا نقي العظم لذكور الفئران السويسرية البيض المعاملة بالجرع المختلفة من الايفرمكتين والسيطرة السالبة و السيطرة موجبة

المعاملة ملغم /كغم . وزن جسم	عدد الحيوانات /عدد فرشات الطور الاستوائي المفحوصة	مجموع الشذوذ الكروموسومي التركيبي		مجموع الشذوذ الكروموسومي العددي		مجموع الشذوذ الكروموسومي الكلي	
		مع الفجوات	بدون الفجوات	تعدد كروموسومي ناقص Anuploidy	تعدد مجموعي كامل Polyploidy	مع الفجوات	بدون الفجوات
		المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	المتوسط الحسابي± الخطأ القياسي	المتوسط الحسابي± الخطأ القياسي	المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	المتوسط الحسابي± الخطأ القياسي
ماء مقطر	500/5	0.40 ± 5.40	0.20 ± 4.20	0.37 ± 1.20	0.24 ± 0.40	0.31 ± 7.00	0.20 ± 5.80
Methotrexate 2.5 mg/kg.	500/5	* 4.10 ± 31.40	* 3.09 ± 19.40	4.28 ± 13.40	4.53 ± 14.20	* 8.45 ± 58.60	* 7.70 ± 46.60
Ivermectin 0.4 mg/kg.	500/5	* 1.74 ± 7.20	* 1.24 ± 3.60	1.37 ± 5.00	* 1.20 ± 5.80	** 3.37 ± 15.40	** 3.33 ± 11.80
Ivermectin 0.6 mg/kg.	500/5	** 2.14 ± 20.00	** 0.50 ± 12.40	** 1.28 ± 10.40	**1.31 ± 11.20	** 2.60 ± 34.60	** 1.04 ± 27.00
Ivermectin 0.8 mg/kg.	500/5	* 3.89 ± 23.80	* 4.04 ± 15.20	* 1.96 ± 8.60	* 1.96 ± 9.40	** 5.34 ± 44.00	** 5.95 ± 35.40

***معنوي عند مستوى0.01 *معنوي عند مستوى0.05 (Paired sample T- tes)**

تنشأ حالة Polyploidy عند حصول تضاعف ثنائي Double او ثلاثي Triple للمجين(Venitt و parry ، 1984)، وتنتج هذه الظاهرة عن اخفاق فصل مجموعات الكروموسومات عن بعضها البعض في عملية الانقسام الخيطي اثناء الطور الانفصالي، او عن تحفيز الخلية التي لها القابلية اصلا لتكوين متعدد المجموعة الكرموسومية عبر الانقسام الخيطي الداخلي endomitosis (عزيز، 2000). اما ال Anueploidy فيمكن ان تستحدث نتيجة التعرض الخلوي للكيميائيات التي تستهدف العضيات المشتركة في الانقسام الخلوي، او قد تكون الكروموسومات نفسها هي الهدف(Parry و Parry ، 1989) . ان غياب الادبيات المنشورة المعنية بتأثير الايفرمكتين على اليات انقسام السايتوبلازم الخيطي Mitotic cytokinesis جعلت من معرفتنا للآلية التي اتبعتها في احداث التشوهات الكروموسومية المجموعية قاصرا، ويمكن ان تعزى مثل هذه المشاهدات الى حدوث اضطرابات خلوية Cellular disturbances في تنظيم المغزل Spindle organization نتيجة التعرض الكيميائي (Grover و Malhi، 1988).

يظهر الشكل (3) ان الايفرمكتين تسبب في حدوث تشوهات كروموسومية تركيبية مثل شظايا، فجوات، حذف وانتقال روبرتسوني داخل خلايا نقي العظم، كما يتبين الجدول (3) ان المعاملة الفموية لذكور الفئران السويسرية البيض بالعقار ايفرمكتين تسبب في حدوث فروق معنوية في قيم متوسط مجموع الشذوذ الكرموسومي التركيبي وسجلت اعلى قيمة لمتوسط مجموع الشذوذ الكرموسومي التركيبي في المجموعة المعاملة بالايفرمكتين 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم.



الشكل (3) كروموسومات الطورالاستوائي لخلايا نقي عظم الفئران السويسرية البيض من مجموعة المعاملة بالايفرمكتين يحوي شذوذات كروموسومية تركيبية 100X .Giemsa .n=40 ، a : شظية ، فجوة كروماتيدية b : حذف c ، d : انتقال روبرتسوني

جدول (3) ألآعداد والنسب المئوية للفرشات الكروموسومية الحاوية على الشذوذ الكروموسومي في خلايا نقي العظم لذكور الفئران السويسرية البيض المعاملة بالجرع المختلفة من الايفرمكتين و السيطرة السالبة و السيطرة الموجبة

المعاملة ملغم /كغم . وزن جسم	عدد الحيوانات /عدد فرشات الطور الاستوائي المفحوصة	مجموع الشذوذ الكروموسومي التركيبي		الشذوذ التركيبي									
		مع الفجوات	بدون الفجوات	الفجوات Gaps		الكسور Breaks		الشظاياFragments		الحذف Deletions		انتقال روبرتسوني Robertstonian tranlocation		حذف و شظاياDeletions and Fragments	
		المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	العدد	النسبة المئوية %	العدد	النسبة المئوية %	العدد	النسبة المئوية %	العدد	النسبة المئوية %	العدد	النسبة المئوية %	العدد	النسبة المئوية %
ماء مقطر	500/5	0.40 ± 5.40	0.20 ± 4.20	6	22.22	5	18.51	7	25.92	9	33.33	0	0	0	0
Methotrexate 2.5 mg/kg.	500/5	* 4.10 ± 31.40	* 3.09 ± 19.40	66	36	5	2.71	31	16.81	62	33.69	17	9.23	3	1.63
Ivermectin 0.4 mg/kg.	500/5	* 1.74 ± 7.20	* 1.24 ± 3.60	24	38.09	2	3.17	22	34.92	13	20.63	2	3.17	0	0
Ivermectin 0.6 mg/kg.	500/5	** 2.14 ± 20.00	** 0.50 ± 12.40	44	34.64	0	0	38	29.92	32	25.19	11	8.66	2	1.57
Ivermectin 0.8 mg/kg.	500/5	* 3.89 ± 23.80	* 4.04 ± 15.20	49	33.56	8	5.47	45	30.82	30	20.45	14	9.58	0	0

تعد اهمية تسجيل الفجوات عند تقدير القابلية التطفيرية للمركبات محط جدل(Brogger، 1982) وقد يعد شكلا خاصا Particular من اشكال التلف الوراثي (Schinzel و1976), Schmid . ويرى Brusick (1980)عدم امكانية اعتبار الفجوات الكروماتيدية والكروموسومية شذوذا كروموسوميا تركيبيا الا اذا كان تكرار مشاهداته عاليا. لذا تم في هذه الدراسة حساب متوسط الشذوذات الكروموسومية التركيبية في فرشات الطور الاستوائي مع الفجوات وبدونها (Sarkar وآخرون ، 1993). كانت الكسرات(الشظايا) Fragments، اكثر انواع الشذوذ التركيبي شيوعا في الدراسة الحالية، لقد ربط (Nichols 1972) بين نشوء الشظايا و/ أو الكسور وبين الطفرات الوراثية، واشار الى ان هذه الشظايا القابلة للفقدان عند الانقسام الخلوي ممكن ان تكون مصدر ضياع للمادة الوراثية في الخلية البنتية، وقد يكون احتمال هذا الفقدان الوراثي صعب في المجاميع الخلوية المنقسمة باطراد، و يرى (Salama وآخرون، 1995)، ان السبب في نشوء انماط التشوهات الكلاستوجينية مثل الشظايا، الفجوات، الحذف، في خلايا نقي العظم قد يكون انجذاب الكيميائيات المباشر نحو الكروموسومات. ان الكسور المفتوحة لابد ان تعد دليلا على التضرر الوراثي، وهي تمثل المظهر الاهم للتعرض السمي الوراثي، اذ تنشأ الكسور الكروموسومية عندما يحدث التعرض في الطور G_1 والكسور الكروماتيدية عندما يكون التعرض في الطور S او G_2 من دورة الخلية. وان اغلب الكيمياويات المطفرة/ والكلاستوجينية تكون قادرة على احداث شظايا و/ أو كسور في الكرموسومات (Brusick، 1980).اما بخصوص الانتقال الروبرتسوني فان الدراسة الحالية سجلت هذا النمط من الشذوذ التركيبي مع الجرعات ،0.4, 0.6 0.8 ملغم/ كغم من وزن الجسم. ايفرمكتين على التوالي، وبحسب Sadeq (2016) ان هذا النمط من الشذوذ يحد نتيجة التحام كروموسومين من نوع ال Acrocentric chromosome في منطقة السنترومير.

تقدير تلف الدنا في خلايا نقي العظم:

يبين الجدول (4) ان الايفرمكتين تسبب في حث تلف في دنا خلايا نقي العظم في المجاميع المعاملة بالجرعتين 0.6, 0.8 ملغم / كغم من وزن الجسم. من العقار ايفرمكتين، اذ بلغت قيمة متوسط Olive Tail Moment (OTM)مستويات معنوية في خلايا نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض 243.60 ± 12.24 و 367.00 ± 15.06 في المجاميع المعاملة بالايفرمكتين 0.6, 0.8 ملغم \ كغم من وزن الجسم على التوالي، مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة 46.80 ± 4.11. ويمكن ان يشير هذا الى إن للايفرمكتين تأثير متلف للدنا في خلايا نقي العظم وان ارتفاع مستويات تلف الدنا والمعبر عنه بقيم OTM الموضح، قد يكون له علاقة بزيادة تركيز جرعات المعاملة. وفي دراسات لاخرين تم ذكر مثل هذا السلوك المتضمن الزيادة الطردية في مستويات التلف الوراثي مع زيادة جرعة التعريض (Mohammed Saleh وأخرون ، 2012 ؛ نوري، ،2014). لم يتم تقييم قابلية الايفرمكتين في احداث تلف الدنا داخل الجسم، ولا يزال هناك نقص في المعلومات التي تفسر حركيات تلف الدنا DNA damage kinetics التي يحثها الايفرمكتين(Molinari وآخرون، 2013). غير انه قد وجد ان الايفرمكتين له تأثيرا مثبطا لدنا خلايا نقي العظام، اذ يعمل على الاخلال بالتوازن الطبيعي لايونات الكلورايد والكالسيوم على طرفي الجدار الخلوي Chloride and Ca_2 homeostasis، مما قد يؤدي الى توليد جذور حرة بشكل مطرد داخل الخلية(Payne و Soderlund، 1991؛ M'Bemba-meka وآخرون، 2006) وان هذه التغيرات المؤكسدة قد تعمل على تثبيط انزيمات Topoisomerase و Endonucleases، ينتج عنه تحطيم سلاسل الدنا و تكوين معقدات الشطر Cleavage complexes (Kellner وآخرون 2000). وفي تجارب خارج الجسم، اعطى اختبار تقدير الهالة القاعديAlkaline SCGE نتائج ايجابية تؤكد قابلية الايفرمكتين في احداث كسور في السلسلة المفردة للدنا بعد تحضين خلايا CHOK1 لمدة 80 دقيقة مع الايفرمكتين IVM بالتراكيز 5-50 مكغم/ مل، والمشتق المصنع الايفوميك 1.0% (Ivomec 1.0%) بالتركيز 50 مكغم/ مل (Molinari وأخرون ، 2009).

جدول (4) قيم Olive Tail Moment OTM والخلايا ذات الدنا المتضررفي نقي عظم ذكور الفئران السويسرية البيض (السيطرة السالبة و الموجبة و مجموعتي المعاملة بالايفرمكتين)

المعاملة ملغم / كغم . وزن جسم	عدد الحيوانات	عدد الخلايا المفحوصة المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	الخلايا ذات الدنا المتضرر المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي	المتوسط Olive Moment Tail الحسابي ± الخطأ القياسي
ماء مقطر	5	3.96 ± 408.60	1.00 ± 17.60	3.43 ± 30.60
Methotrexate 2.5 mg/kg.	5	** 5.13 ± 432.00	** 3.15 ± 166.20	** 8.70 ± 362.00
Ivermectin 0.6 mg/kg.	5	** 7.92 ± 401.80	** 4.15 ± 91.40	** 12.08 ± 198.60
Ivermectin 0.8 mg/kg.	5	** 6.61 ± 423.40	** 8.24 ± 129.00	** 18.50 ± 276.40

****معنوي عند مستوى0.01 * معنوي عند مستوى0.05 (Paired sample T- test)**

المصادر :

عزيز، جبرائيل برصوم (2000) بايلوجية الخلية . ط2 ،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي |جامعة الموصل، دار الكتب للطباعة والنشر ص 122–123.

نوري، ضحى صلاح (2014) دراسة التاثير السمي الوراثي والتيراتوجيني للمبيد الفطري Propamocarp Hydrochloride في الفئران السويسرية البيض *Mus musculus*.رسالة ماجستر،كلية العلوم ،جامعة تكريت.

Adler,I.D.(1984). Cytogenetic Test in Mammals ,In Mutagenecity testing (apractical approach) by Venitt , S. and Parry ,J.M., IRL Press ,Oxford. Washigton DC.

Brogger, A. (1982). The chromatid gap a useful parameter in genotoxicology? Cytogenet. Cell Genet, 3: 14-19.

Brusick, D. J.(1980). Principles of Genetic Toxicology. plenum press . New York, united states of America.

Crump, A. and Ōmura, S.(2011) Ivermectin, 'wonder drug' from Japan: the human use perspective. Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Bio.l Sci.,87(2):13-28.

El-Ashmawy, I.M.; El-Nahas, A.F.;Bayad,A.E.(2011) Teratogenic and cytogenetic effects of ivermectin and its interaction with P- glycoprotein inhibitor. Res Vet Sci ,90(1):116-123.

Grover, I. S. and Malhi, P. K. (1988). Genotoxic effects of some organophosphorus pesticides. III. In vivo chromosomal aberration bioassay in root meristems of Allium and Hordeum. Cytologia, 53: 181-191.

Kellner, U.; Rudolph, P. and Parwaresch, R.(2000). Human DNA-Topoisomerases-Diagnostic and Therapeutic Implications for Cancer. Onkologie, 23: 424-430

Krishna, G. and Hayashi, M.(2000). In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation.MutationResearch/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis,455(1-2) :155–166.

Matter, B. E. and Grauwiler, J. (1974). Micronuclei in mouse bone marrow cells. A simple in vivo model for the evaluation of drug induced chromosomal aberrations. Mutat. Res. 23:239-249.

M'Bemba-Meka, P.; Lemieux, N. and Chakrabarti, S.K. (2006). Role of oxidative stress, mitochondrial membrane potential and calcium homeostasis in nickel subsulfide-induced human lymphocyte death in vitro. Science of the Total Environment, 369: 21-34.

Mellin, T.: Busch, R.d. and Wang, C.c. (1983). Post Synaptic Inhibition Of Invertebrate Neuromuscular Transmissions By Avermectin Bia. Neuropharmacology,22: 89-96.

Mohammed Saleh, H.W.; Shehab, A.F. and Sadeq, S.W. (2012). Evaluation of the Genotoxic Effects of Methoprim in Whit Mice. Al-Ma'mon College Journal ,19:26-38.

Molinari, G.; Kujawski,M.; Scuto,A.; Soloneski,S. and Larramendy, M.L.(2013).DNA damage kinetics and apoptosis in ivermectin treated Chinese hamster ovary cells .Journal of Applied Toxicology, 33(11): 1260-1267.

Molinari, G. ; Soloneski,S.; Reigosa, M.A. and Larramendy, M.L.(2009). In vitro genotoxic and cytotoxic effects of ivermectin and its formulation ivomec® on Chinese hamster ovary (CHOK1).Journal of Hazardous Materials, 165: 1074-1082.

Molinari, G.; Soloneski, S.; Reigosa, M.A. and Larramendy, M.L. (2010). Genotoxic and cytotoxic in vitro evaluation of ivermectin and its formulation ivomecW on Aedes albopictus larvae (CCL-126TM) cells. Toxicol. Environ. Chem., 92: 1577–1593.

Nichols, W. W. (1972). Genetic hazards of Drugs of Abuse In Zerafonetics. In. C. I. D.(ed.). " Drug Abuse" proceeding of International Conference. Lea and Febiger.

Ottesen, E.A. and Campbell, W.C. (1994). Ivermectin in human medicine. J. Antimicrob. Chemother.,34: 195–203.

Paget, G. F. and Barnes,J.M. (1964). Toxicity testing in Evaluation of Drug Activities. In. Laurence. D. R. and Bachrach, A. L. (eds.) pharmacometrics. Academic press, London. P. 161.

Parry, J. M. and Parry, E. M. (1989). Induced chromosome aneuploidy: its role in the assessment of the genetic toxicology of environmental chemicals. New Trends in Genetic Risk Assessment. G. Jolles and A. Cordier. London, UK, Academic Press: 262–296.

Payne, G.T. and Soderlund,D.M.(1991). Activation of gamma-aminobutyric acid insensitive chloride of channels in mouse brain synaptic vesicles by avermectin B1a. Journal of Biochemical Toxicology ,6:283-292.

Pony, S. and Wang, C.(1980). Avermectin B1a Increases The Number Of Gaba Receptors In Thoroughly Washed Rat Brain Membranes. Abstract Soc Neuroscience 10th Annu Meet Cincinatti, 6 542 No 184.22.

Pony ,S., Wang, C. and Fritz, L.(1980). Studies On The Mechanisms Of Action Of Avermectin B La: Stimulation Of Release Of Gamma Amino Butyric Acid From Brain Synaptosomes.J Neurochem,34:351-358.

Sadeq ,W. S.(2016). Genotoxic and Cytotoxic Effects of Fumagillin in White Mice .Journal Tikrit Univ. For Agricultural Sciences,16(1):8-18

Salama, S. A.; Fahmi ,A. I. and Abo El-Ghar , G. E. S.(1995). Chromosomal Aberrations and Spermhead Abnormalities Induced by Abamectin (Avermectin B1)and its Degradates in Male Swiss Albino Mice. The Japan Mendel Society Cytologia, 60:411-417.

Sarkar, D .; Sharma, A. and Talukder ,G.(1993). Differential protection of chlorophyllin against clastogenic effects of chromium and chlordane in mouse bone marrow in vivo. Mutation Research Letters.301(1) : 33-36

Schinzel, A. and Schmid, W. (1976). Lymphocyte chromosome studiezs in humane exposed to chemical mutagens: the validity of the method in 67 pataints under cytostatic therapy. Mut. Res,40:139-166.

Schmid, W.(1975). The micronucleus test .Mutant .Res,31:9-15.

Sweify, K. M. ;Darwish, I.A. and Hafez, D.D.A. (2015). The cytogenetic potential of ivermectin on bone marrow cells of mice in vivo.Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology,9(2):17-29.

Tice, R. R.; Agurell, E.; Anderson,D.; Burlinson,B.; Hartmann,A. ; Kobayashi, H.; Miyamae, Y.; Rojas, E.; Ryu, J.C. and Sasaki , Y. F.(2000). Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing.Environmental and Molecular Mutagenesis,35:206-221.

Venitt , S. and Parry ,J.M.(1984). Mutagenecity testing (apractical approach) IRL Press , Oxford. Washigton DC.