Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics

التـاثير الوراثي الخلوي لملونات الكراميل في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

أخلاص محمد فرحان الطائي[1]، محمد عمر محي الدين[2]، ناهي يوسف ياسين[3]

1 وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة بحوث وتكنولوجيا البيئة والمياه
2 كلية الزراعة/ جامعة بغداد
3المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية

الخلاصة :

ملونات الكراميل من أكثر الملونات الغذائية التي تستخدم على نطاق واسع في المنتجات والأغذية المصنعة ، إذ تستعمل في صناعة الحلوى والمشروبات الغازية، وأثيرت في السنوات الأخيرة الكثير من الشكوك والتحذيرات حول إستخدامها. ولكون هذه الملونات لها تماس مباشر بصحة الأنسان وخاصة الأطفال، ولعدم توفر دراسات توضح بشكل دقيق التـأثير السمي والوراثي لهذه الملونات، جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على التأثير الوراثي الخلوي لملونات الكراميل (الفئة الرابعة)، في تراكيز مختلفة (20،15،10،5) مايكروغرام / مل، في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان . بأستخدام فحوصات الوراثة الخلوية (معامل الأنقسام Mitotic Index ، والتشوهات الكروموسومية aberration Chromosomal ، والانوية الصغيرة Micronucles) . تشير هذه النتائج إلى أن الملونات أحدثت تغيرات كروموسومية تمثلت بالكسور الكروموسومية والكروماتيدية والفجوات الكروموسومية والكروماتيدية وقطع كروموسومية بدون مرتكز،كما تسببت في خفض معامل الأنقسام ، وزيادة تردد النوى الصغيرة.

الكلمات الدلالية: التحليلات الوراثية، ملونات الكراميل، خلايا الدم اللمفاوية للإنسان.

المقدمة:

مع تطور تصنيع الأغذية ، أزداد استخدام المضافات الغذائية في الأغذية المصنعة، مثل الألوان الغذائية والمواد الحافظة، والعديد من المضافات الغذائية والتي هي قيد الاستخدام يمكن أن تؤثر سلبا على مستهلكيها وتسبب في ظروف صحية معينة بدرجات متفاوتة.

الملونات الغذائية من أكثر المضافات التي أثبتت البحوث والدراسات ارتباطها بالآثار السلبية والضارة على صحة المستهلك، فهي تسبب التهاب الجلد والحساسية، خاصة للأشخاص الذين يعانون من الربو (1) ، وتؤدي إلى أثار سلبية على السلوك العصبي (2)، كما يمكن أن تؤثر في أنسجة الكبد والكلى (3) ، وتقلل من المناعة (4) ، وتسبب السمية للخلايا اللمفاوية البشرية إذ تعمل على إنخفاض مؤشر الانقسام، وظهور الانحرافات الخلوية، مثل زيادة تردد الأنوية الصغيرة 5)). وتسبب التشوهات الخلقية والسرطان (6). ويمكن أن تعمل بعض الملونات مثل ملونات التارتارزين كمطفرات من خلال ماتسببه من إنحراف كبير للكروموسومات وتجزئة الحامض النووي، وزيادة التشوهات الشكلية في الحيوانات المنوية لتلك الحيوانات(7) .

ملونات الكراميل من أكثر الملونات الغذائية الشائعة الاستعمال في الصناعات الغذائية، وتعرف بأنها عبارة عن خليط معقد من المركبات الناتجة من تسخين للكربوهيدرات مع السيطرة على الحرارة وظروف المعالجة الكيماوية ويكون لونها بين البني المضيء إلى البني الداكن، ولها رائحة حرق السكر المرغوبة والطعم المر إلى حد ما. تصنف ملونات الكراميل إلى أربع فئات حسب طريقة تصنيعها وخصائصها الوظيفية والتطبيقية (8)، ولكل نوع منها خصائص وظيفية معينة (9).

أثير في السنوات الأخيرة الكثير من الشكوك حول استخدام هذه الملونات، فهناك دراسات متناقضة حول سميتها ، ففي حين بينت دراسات أن ملونات الكراميل تكون خطرة على الاشخاص الذين يعانون من الربو ومن حالات صحية أخرى (10) ، جاءت دراسات أخرى لتؤكد سلامة هذه المادة وعدم سميتها (11). وفي دراسة اسُتخدم فيها ثلاثة من ملونات الكراميل (واحدة من الفئة الأولى ، اثنان من الفئة الثالثة) وتم أختبارها في خلايا الهامستر المبيض الصيني (CHO) لفحص الانحرافات الكروموسومية، خلص الباحثون انه ليس هناك تأثير لملونات الكراميل في إحداث أي ضرر كروموسومي، بينما كشفت دراسات أخرى عن وجود نتائج إيجابية لملونات الكراميل في الخلايا من النوع نفسه، في التسبب بزيادة واضحة في الانحرافات الكروموسومية (12). كما وجد أن لبعض ملونات الكراميل الناتجة من التسخين العادي من دون مواد محفزة تأثير وراثي ، عند تقيم سميتها في الخلايا اللمفاوية (13).

المواد وطرق العمل:

تحضير تراكيز ملونات الكراميل: تم الحصول على ملونات الكراميل (E150d) من مصنع الببسي في العراق وهو مجهز من الشركة الهولندية ، وحضرت اربعة تراكيز10،5 ،15،20 مايكروغرام / مل من ملونات الكراميل وبمعدل ثلاثة مكررات لكل تركيز .

مزارع الخلايا اللمفاوية

جُمعت عينات الدم المحيطي من (6) أشخاص غير مدخنين ولا يتعاطون المشروبات الكحولية، إذ تم زرع الدم لكل أنموذج وقسمت أنابيب الزرع على مجموعتين:

- المجموعة الأولى لغرض دراسة معامل الأنقسام الخلوي Mitotic Index (MI)) واختبار الانحرافات الكروموسومية Chromosomel Aberation (CA))
- المجموعة الثانية لغرض دراسة الأنوية الصغيرة Micronucles(MN)

تم أجراء عملية زرع الدم تحت ظروف معقمة وذلك بإضافة 0.35 0.5- مللتر أو 10-7 قطرة من الدم لكل أنبوبة حاوية على 5 مللتر من الوسط الزرعي 1640

Corresponding Address:
Nahi Yousif Yaseen
Iraqi Center of cancer and medical genetic research, Al-Mustansiriya University.
Email: nahiyaseen@iccmgr.org

RPMI المحضر مسبقاً، ثم يضاف لكل أنبوبة 0.3 مللتر من مادة .(PHA) ثم إضافة 0.3 مليلتر من التراكيز المختلفة وبمعدل ثلاثة مكررات لكل معاملة لكلا المجموعتين وكالآتي:

- المجموعة الأولى يتم إضافة التركيز الأول من ملون الكراميل5 مايكروغرام / مل
- المجموعة الثانية يتم إضافة التركيز الثاني من ملون الكراميل 10 مايكروغرام / مل
- المجموعة الثالثة يتم إضافة التركيز الثالث من ملون الكراميل15 مايكروغرام / مل
- المجموعة الرابعة يتم إضافة التركيز الرابع من ملون الكراميل 20 مايكروغرام / مل
- المجموعة السادسة تترك من دون إضافة وتعد المعاملة سيطرة سالبة
- المجموعة السابعة إضافة المايتومايسين Mitomycin c وعُدت المعاملة سيطرة موجبة.

وتغلق أنابيب الزرع بصورة محكمة وتخلط المحتويات جيداً وتحضن في درجة حرارة (37 C°) بوضع مائل لمدة 72 ساعة مع مراعاة رج الأنابيب بهدوء مرتين على الأقل كل 24 ساعة في أثناء مدة الحضن.

1. تحضير الكروموسومات Chromosomal Aberrations

لغرض إيقاف عملية الانقسام في الطور الاستوائي Metaphase الذي تكون فيه الكروموسومات أكثر وضوحاً أضيف 0.1 مل من محلول الكولسيمايد بتركيز نهائي قدره 25ug/ml لكل أنبوبة زرع قبل انتهاء مدة حضن الخلايا بنصف ساعة أي عند الساعة 71:30 من الحضن ورجت جيداً وأعيدت إلى الحاضنة لاستكمال مدة الحضانة البالغة72 ساعة. ثم أجريت عملية الحصاد والتثبيت للحصول على الخلايا بإجراء عملية النبذ المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة) ولمدة عشرة دقائق ثم أخذت الخلايا وأضيفت محلول كلوريد البوتاسيوم ((KCL 0.075 مولاري (واطئ التركيز Hypotonic Solution) الدافئ بدرجة 37 pu بمقدار5 مل مع التحريك المستمر والرج، استمر بالخلط والإضافة إلى أن وصلت الإضافة إلى 10 مليلتر لكل انبوبة.

ثم أعيدت الأنابيب إلى الحاضنة بدرجة 37 pu لمدة 20 دقيقة ثم عُوملت الخلايا بعد نبذها مركزيا بالمثبت المحضر آنياً (1:3)) ميثانول: حامض الخليك الثلجي) حيث غسلت بة ثلاث مرات متتالية ثم قطرت الخلايا على شرائح زجاجية، حضرت الشرائح الزجاجية بثلاثة مكررات لكل معاملة وجففت بدرجة حرارة الغرفة حيث أصبحت جاهزة للتصبيغ والفحص.

2.تحضير الأنوية الصغيرة

أستعملت الأنابيب المخصصة للمجموعة الثانية في تحضير الأنوية الصغيرة إذ أضيف 40 مايكروغرام من محلول سايتو– ب (Cytochalasin-B(Cyt- B قبل إنتهاء فترة الحضن ب 28 ساعة ثم أعيدت الأنابيب إلى الحاضنة لإتمام مدة الحضن إلى (72) ساعة. ثم أجريت عملية الحصاد والتثبيت للحصول على الخلايا بإجراء عملية النبذ المركزي بسرعة (1000) دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق وسكب الرائق وأضيف إلى الراسب 5 مل من محلول كلوريد البوتاسيوم عالي التركيز (0.1M Hypertonic Solution) ولمدة عشرة دقائق).

ثم أعيدت الأنابيب إلى الحاضنة بدرجة 37 pu لمدة 20 دقيقة ثم عُوملت الخلايا بعد نبذها مركزيا بالمثبت المحضر آنياً (1:3)) ميثانول: حامض الخليك الثلجي) حيث غسلت بة ثلاث مرات متتالية. ثم فرشت الخلايا على الشرائح الزجاجية وصبغت بصبغة كمزا .

- الفحص المجهري Microscopical Examination

فحصت الشرائح الزجاجية بدقة بوساطة المجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية، وتم حساب معامل الانقسام والانوية الصغيرة والتشوهات الكروموسومية بالشكل التالي.

1. حساب معامل الانقسام (Mitotic index (MI : تم فحص 1000 خلية لكل مكرر ثم حساب معامل الانقسام الخلوي من خلال حساب النسبة المئوية بين عدد الخلايا المنقسمة إلى العدد الكلي لخلايا الدم اللمفاوية للإنسان

معامل الانقسام (MI%) = (عدد الخلايا المنقسمة /العدد الكلي للخلايا) ×100

2. حساب التشوهات الكروموسومية CA: إذ تم حساب ما لا يقل عن 100 خلية مارة في طور الانقسام الاستوائي Metaphase من الانقسام الخلوي أختيرت عشوائياً لكل مكرر أنموذج دم وحسب المعدل.

3. حساب الانوية الصغيرة : وتم حساب ما لا يقل عن (1000) خلية لمفاوية منقسمة ثنائية النواة Cytokinesis Blocked Lymphocyte Cells (CBL Cells) أو Binucleate Cells لكل أنموذج دم وحسبت إعداد الانوية الصغيرة في تلك الخلايا، ثم أستخرج المعدل (14).

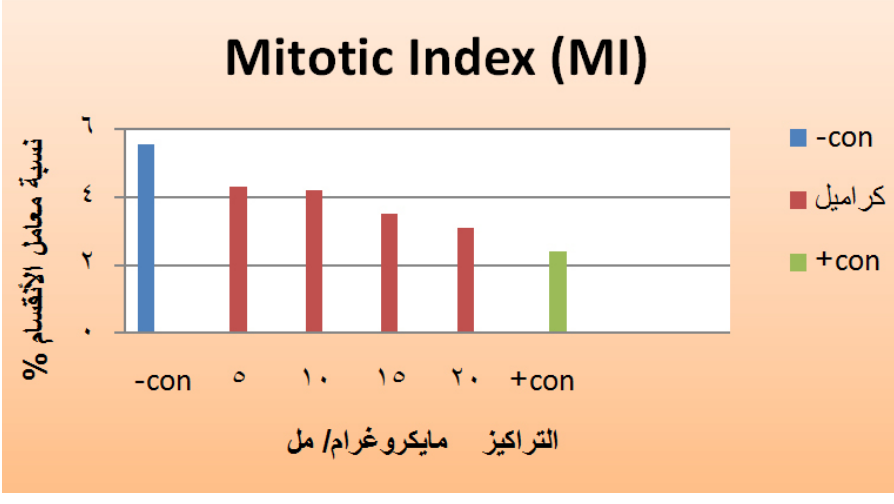
- التحليل الإحصائي Statistical Analysis

استخدم البرنامج الإحصائي (SAS-Statistical Analysis System (2010 في تحليل بيانات النتائج التي تم الحصول عليها ،وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (LSD) باحتمالية (15). (P<0.05)

النتائج والمناقشة :

أ- تأثير تراكيز مختلفة من ملونات الكراميل على معامل الانقسام في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

تم حضن تراكيز مختلفة من ملون الكراميل 5و 10 و 15 و20 مايكروغرام / مل، مع الخلايا الدم اللمفاوية.



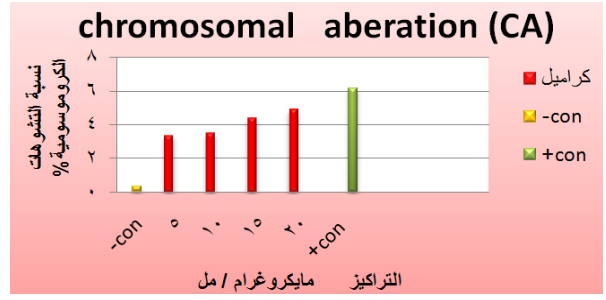
الشكل (1): النسبة المئوية لمعامل الأنقسام في خلايا الـدم اللمفاويـة للإنسـان المعاملـة بتراكيز مختلفة من ملون الكراميل

كشفت النتائج المبينة في الجدول (1) ، إلى وجود تأثير معنوي عالٍ (P <0.05) لجميع التراكيز وحدوث أنخفاض ملحوظ في معامل الانقسام بزيادة التركيز، الشكل (1) . ففي التراكير 15 و 20 مايكروغرام / مل انخفض متوسط قيم معامل الانقسام بشكل معنوي لتصل إلى3.50% و3.12 % على التوالي مقارنة مع متوسط قيمة معامل الانقسام للسيطرة السالبة 5.54 %.

الجدول (1) أقل فرق معنوي لتأثيرتراكيز مختلفة من ملون الكراميل في معامل الأنقسام في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

المعاملات مايكروغرام / مل	المتوسط الحسابي + الخطأ التجريبي
السيطرة السالبة	a 0.02 ± 5.54
السيطرة الموجبة	b 0.01 ± 2.42
5	c 0.01 ± 4.30
10	d 0.01 ± 4.18
15	e 0.01 ± 3.50
20	f 0.01 ± 3.12

- الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية على مستوى P<0.05
- الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية على مستوى P<0.05
- تمثل النتائج معدل ثلاثة مكررات لكل معاملة



الشـكل (2): النسـبة المئوية للتشـوهات الكروموسـومية في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان المعاملة بتراكيز مختلفة من ملون الكراميل

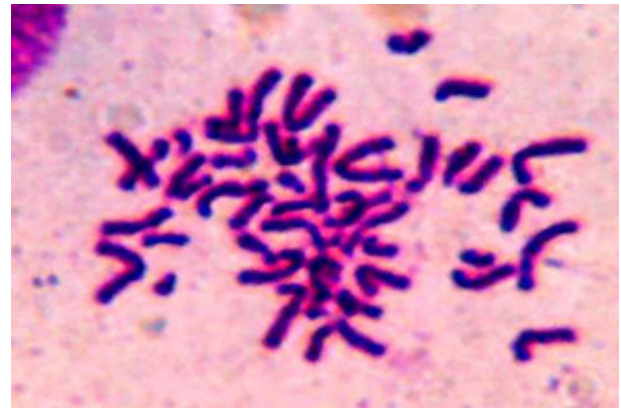
ب - تأثير تراكيز مختلفة من ملونات الكراميل على التشوهات الكروموسومية في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

كشف التحليل الأحصائي المبين في الجدول (2) ، أن معاملة الخلايا الدم اللمفاوية للإنسان بتراكيز مختلفة من ملونات الكراميل وهي 5 و10و 15 و20 مايكروغرام /مل . أحدث تغيرات في الهيئة الكروموسومية مثل الكسور الكروموسومية والكروماتيدية وعلى نحو ملحوظ ومعنوي(P<0.05) في التراكيز جميعها المستخدمة بالمقارنة مع السيطرة السالبة. ولوحظ أن متوسط مجموع االتشوهات الكروموسومية يتناسب طردياً مع زيادة التركيز الشكل (2).

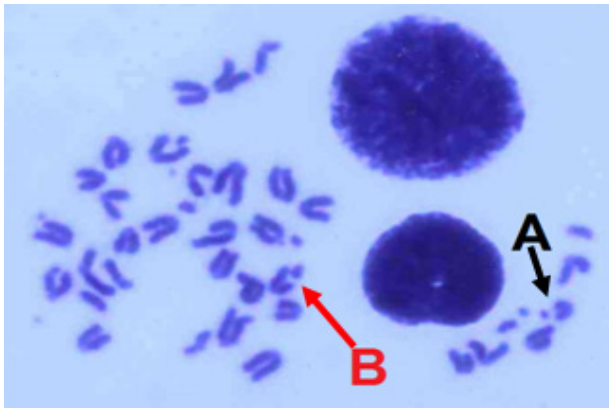
الجدول (2) أقل فرق معنوي لتأثير ملون الكراميل في التشوهات الكروموسومية في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

المعاملات مايكروغرام /مل	المتوسط ± الخطأ القياسي					نسبة التشوهات الكروموسومية ٪
	Break chromosome كسر كروموسومي	Break chromatid كسر كروماتيدي	Gap chromatid فجوة كروماتيدية	Gap chromosome فجوة كروموسومية	Acentric chromosome قطع كروموسومية	
Control -	0.00 ± 0 a	0.00 ± 0 a	0.04 ± 0.005 c	0.246 ± 0.01 b	0.00 ± 0 a	0.286 ± 0.01 a
Control +	0.15 ± 0.005 b	1.35 ± 0.017 e	1.73 ± 0.02 d	2.89 ± 0.005 dc	0.04 ± 0.005 b	6.16 ± 0.03 b
5	0.120 ± 0.005 c	1.09 ± 0.015 f	0.93 ± 0.005 b	1.17 ± 0.005 b	0.010 ± 0.005 c	3.32 ± 0.02 c
10	0.100 ± 0.005 d	1.12 ± 0.01 b	1.10 ± 0.01 d	1.12 ± 0.01 b	0.020 ± 0.005 d	3.46 ± 0.05 d
15	0.13 ± 0.01 c	1.04 ± 0.005 f	0.96 ± 0.01 b	2.20 ± 0.005 dc	0.010 ± 0.005 c	4.34 ± 0.02 e
20	0.10 ± 0.005 d	1.14 ±0.005 b	1.10 ± 0.01 d	2.50 ± 0.05 dc	0.020 ± 0.005 d	4.86 ± 0.04 f

- الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فروق معنوية على مستوى P<0.05

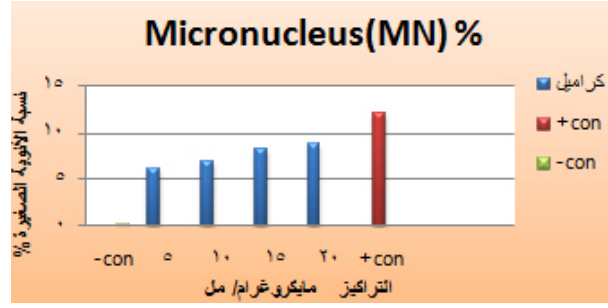


كروموسومات طبيعية



A – كسر كروماتيدي B- كسر كروموسومي

صورة (1) الهيئة الكروموسومية الطبيعية وأنواع التشوهات الكروموسومية المستحثة بملون الكراميل في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان (X 160).



الشـكل (3): النسـبة المئوية للأنويـة الصغيرة في خلايا الـدم اللمفاوية للإنسان المعاملة بتراكيز مختلفة من ملون الكراميل

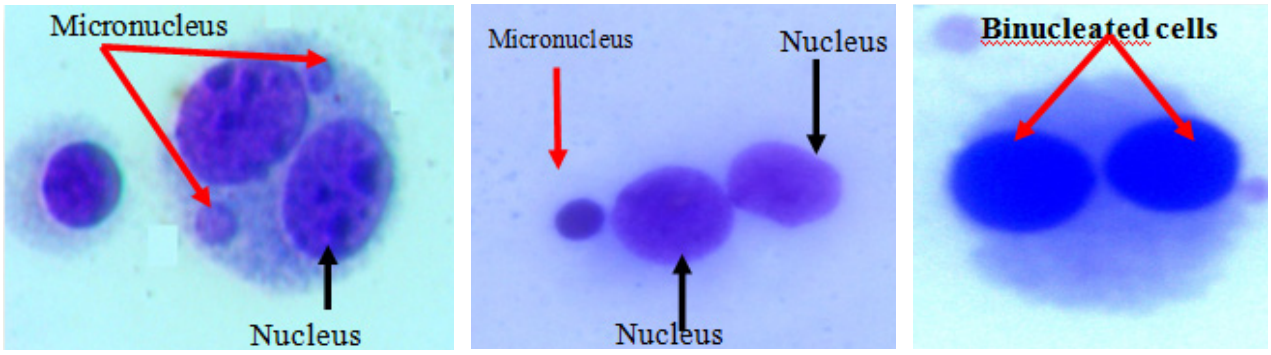
ج - تأثير تراكيز مختلفة من ملونات الكراميل على تكون الأنوية الصغيرة في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

أوضحت النتائج المبينة في الجدول (3)، النسبة المئوية لأعداد النوى الصغيرة في العدد الكلي للخلايا المفحوصة ، ونلاحظ زيادة تردد النوى بزيادة تراكيز الكراميل مقارنة مع السيطرة السالبة ، وقد شكل هذا الاختلاف فرقاً معنوياً (.($P<0.05$ الشكل (3).

الجدول (3) أقل فرق معنوي لتأثير تراكيز مختلفة من ملون الكراميل في تكون الأنوية الصغيرة في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان

المعاملات مايكروغرام / مل	توزيع الأنوية في كل خلية				عدد الخلايا الحاوية على الأنوية	عدد الأنوية الصغيرة	عدد الأنوية الصغيرة في العدد الكلي	نسبة الأنوية الصغيرة ٪
	0	1	2	3				
السيطرة السالبة	998	2	0	0	2	2	0.002	0.2 ± 0.01 a
السيطرة الموجبة	928	35	25	12	72	121	٠،121	12.1 ± 0.78 b
5	963	20	10	7	37	61	0.061	6.1 ± 0.37 c
10	959	21	12	8	41	69	0.069	6. 9 ± 0.52 d
15	950	28	12	10	50	82	0.082	8.2 ± 0.75 e
20	946	29	16	9	54	88	0.088	8.8 ± 0.82 f

الحروف المتشابهة - تدل على عدم وجود فروق معنوية على مستوى $P<0.05$
الحروف المختلفة - تدل على وجود فروق معنوية على مستوى$P<0.05$
تمثل النتائج معدل ثلاثة مكررات لكل معاملة



A – نواتين صغيرتين في خلايا الدم اللمفاوية

D- نواة صغيرة في خلايا الدم اللمفاوية

C – خلية لمفاوية بدون نواة صغيرة

(: (2 هيئة النوى الصغيرة في الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي للإنسان المعاملة بملون الكراميل. وتشير السهام إلى النواة الصغيرة ((MN والنواة الرئيسية قوة التكبير (X 100).

المناقشة:

إن الملوثات الغذائية يمكن أن تصنف على أنها مطفرات ذات سمية وراثية وغير مطفرة على وفق إلية تأثيرها والعوامل السمية الوراثية تبدأ عملها على مستوى الحامض النووي، مما تسبب في أضرار الحمض النووي كالطفرات الجينية النقطية والحذف والإقحام، وإعادة التركيب، وكذلك التشوهات الكروموسومية وغيرها. أما العوامل التي ليس لها سمية فيفترض أنها تؤثر بشكل غير مباشر في الخلية وهي غالباً ما تكون (macro-components 16).

لوحظ من خلال النتائج أن معاملة الخلايا اللمفاوية بملون الكراميل، يسبب زيادة وتيرة التشوهات الكروموسومية مثل الكسر الكروموسومي والكسر الكروماتيدي والفجوات الكروموسومية والكروماتيدية والقطع الكروموسومي ويعتمد على التراكيز المستخدمة التي تتناسب طردياً مع زيادة التركيز. إذ أظهر التركيزان 15و 20مايكروغرام / مل، تأثيراً معنوياً (.(P<0.05 عند مقارنتها مع معاملة السيطرة السالبة ومعاملة السيطرة الموجبة (المايتومايسين – سي).

وأن معظم التشوهات الكروموسومية كانت تشوهات كروموسومية هيكلية، والتي تنتج بسبب حدوث ضرر في DNA . أو عن طريق تثبيط تخليق DNA وآليات أخرى مثل تثبيط أنزيم (topoisomerase II 17) ، كما في الصورة (1). فالكسور الكروماتيدية تحدث في دورة الخلية G2 والتي تكون الكروموسومات عندها مكونة من كروماتيدين ، أما الكسور الكروموسومية فتحدث في دورة الخلية G1 والتي تكون عندها الكروماتيدين قد تأثرت (18).

وتبين نتائج الدراسة أن ملون الكراميل تسبب في زيادة تردد الأنوية الصغيرة في التراكيز جميعها وبشكل معنوي ((P<0.05كما هو موضح في الصورة (2). وكانت معظم الخلايا تحتوي على نواة صغيرة واحدة mononucleated وبشكل أقل التي تحتوي على نواتين binucleated أو متعددة النوى . تنشأ الأنوية الصغيرة من شظايا كروموسوم أو الكروموسومات بأكملها التي تفشل في الارتباط بالمغزل عند الانقسام وبذلك تتخلف عنه (19). كما أن بعض المواد الكيميائية تؤثر على الفعالية الأنزيمية للخلية وهذا التأثير يؤدي إلى تأخر الانقسام الخيطي مما يسبب تشوهات كروموسومية قد تؤدي إلى تكوين قطع كروموسومية تظهر على شكل أنوية صغيرة (20).

وأن قياس تردد النويات في الخلايا الدم اللمفاوية البشرية هي واحدة من أكثر الوسائل إستخداماً لقياس الإضرار التي تصيب الحامض النووي في الخلايا البشرية المعرضة للعوامل السمية (20). كما تم تطبيق هذا الاختبار بنجاح لتحديد العوامل المهنية والغذائية والوراثية التي لها تأثير كبير في استقرار الكروموسوم (21) . ووفقاً للباحث Bonassi وآخرون (22) ثمة علاقة بين الأنوية الصغيرة الناتجة عن معاملة الخلايا ببعض المواد الكيميائية وتطور مرض السرطان.

يعد هذا الاختبار مهماً في الكشف عن الأضرار التي تصيب المادة الوراثية وتضر بصحة الإنسان ، إلى جانب الفحوص الوراثية الخلوية الأخرى ، ويمتلك الاختبار عدداً من المزايا، كالدقة وسرعة الانجاز وقلة الكلفة (23). وعليه فان تأثير أي مادة في زيادة نسبة الانوية الصغيرة في الخلايا الدم اللمفاوية يعد دليلاً على انه للمادة تأثير مطفر(20). ولكون ملون الكرامل يسبب زيادة في تردد النوى الصغيرة في خلايا الدم اللمفاوية لذا يعتبر له تأثير مطفر.

أن سمية ملونات الكراميل قد تعزى إلى احتوائه على hydroxym-ethylfurfura (HMF) و الفيروفورال 4- Methylimidazole (FF) ، والأكريلاميد التي تنتج في أثناء التحلل الحراري للسكريات المختزلة مع الأمونيا (24). وتعد من المواد ذات التأثيرات السمية وذات الفعل المطفر والمسرطن (25) والتي يمكن إن تسبب تحطم الخلايا في مختلف أعضاء الجسم من خلال زيادة الفعالية الايضية للمركبات وإنتاج الجذور الحرة مثل جذور بيروكسيد الهيدروجين والهيدروكسيل والتي تعالجها أنظمة أنزيمية وغير أنزيمية مختلفة تتطور بوجود (Reactive oxygen species; (ROS في الخلايا والجذور الحرة الأخرى. كما تؤثر جذور ROS أيضاً في إليات الدفاع المضادة للأكسدة وذلك بزيادة تركيز (GSH) Glutathion داخل الخلايا وتقليل فعالية أنزيم (Superoxide dismutase (SOD وأنزيم الكتليزCatalase كما ويقلل من فعالية إنزيم الكلوتاثيون الانتقالي). (Glutathion transferase (GST 26)

هناك دراسات عدة تناولت التأثير السمي والوراثي للمركبات التي تنتج أثناء تصنيع الكراميل، ذكر Durling وآخرون (27) أن المركبات الكيميائية مثل Furan و HMF وFolic acid تحث التشوهات الكروموسومية وتزيد من تردد النوى الصغيرة في مزارع الخلايا والفئران. كما بينت دراسة أخرى أن الاكريلاميد وهي من المركبات الكيميائية السامة التي تنتج من تسخين الكاربوهيدرات مع الأمونيا، تسبب الضرر الوراثي من خلال تكون التشوهات الكروموسومية في خلايا الدم اللمفاوية (28).

الأستنتاجات والتوصيات

من خلال ما تقدم نستنتج أن ملون الكراميل له تأثير سام على المادة الوراثية إضافة إلى كونه مادة مطفرة للخلايا. وقد اثبت ذلك بالاختبارات التي أجريت في الدراسة، من خلال قدرته على خفض معامل الانقسام وزيادة نسبة التشوهات الكروموسومية والنوى الصغيرة في خلايا الدم اللمفاوية للإنسان . لذا يجب على السلطات الإشرافية مثل منظمة الأغذية والزراعة FAO / منظمة الصحة العالمية WHO و لجنة الخبراء المشتركة JECFA ، وضع معايير أكثر صرامة لاستخدام هذه الملونات ضمن الحدود الآمنة المسموح بها عالمياً ، حيث أن الاستخدام الغير ملائم لهذه الملونات يمكن أن يتسبب في أثار صحية ضارة للمستهلك.

المصادر:

1. Martin, H. (2007). Soft drinks cause degenerative DNA diseases. http//news. indep endent.Co.uk/ health article
2. Tanaka T, Takahashi O, Oishi S, Ogata A (2008). Effects of tartrazine on exploratory behavior in a three-generation toxicity study in mice. Reprod. Toxicol. 26(2):156-163.
3. Sahar S. A. Soltan , Manal M. E. M. Shehata . The Effects of Using Color Foods of Children on Immunity Properties and Liver, Kidney on Rats. Food and Nut. Sci , 2012, 3, 897-904
4. Mehedi .N , Mokrane.N , Alami .O, Ainad-Tabet .S, Zaoui.C , Omar Kheroua and Djamel Saidi. ,(2013).A thirteen week ad libitum administration toxicity study of tartrazine in Swiss mice. Afr. J. Biotechnol.12(28):4519-4529
5. Mpountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S (2010). Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants Amaranth, Erythrosine and tartrazine. Food Chem. Toxicol. 48: 2934-2944
6. Feng, X. M., Sun, G., Fu, B. J., Su, C. H., Liu, Y., and Lamparski, H. , (2012). Regional effects of vegetation restoration on water yield across the Loess Plateau, China, Hydrol. Earth Syst. Sci. 16, 2617–2628, doi:10.5194/hess-16-2617-2012
7. Sayed AH, Mahmoud UM, Mekkawy IA (2012a). Reproductive biomarkers to identify Endocrine disruption in Clarias gariepinus exposed to 4-nonylphenol. Ecoto Environ. Saft. 78, 310–319.
8. Kitts DD, Wu CH, Kopec A, Nagasawa T (2006). Chemistry and genotoxicity of caramelized sucrose. Mol. Nutr. Food.Res. 50(12):1180-1190
9. Greenhawt, Matthew and James L. Baldwin. 2008. Food Colorings and Flavors. In Food Allergy: Adverse Reactions to Foods and Food Additives, Fourth Edition, edited by Dean D. Metcalfe, Hugh A. Sampson and Ronald A. Simon (Chapter 34). Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ltd.
10. U.S. Food and Drug Administration (FDA). 2010a.U.S. Food and Drug Administration Color Additive Status List. http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories/UCM106626
11. Brusick DJ, Jagannath DR and Galloway SM, 1992. Genotoxicity hazard assessment of caramel colours III and IV. Food and Chemical
12. Galloway SM and Brusick DJ, 1981b. Mutagenicity evaluation of ETA-48-IH in an in vitro cytogenetic assay measuring chromosome aberration frequencies in Chinese hamster ovary (CHO) cells. Part II. Unpublished report No. 20990 from Litton Bionetics Inc., Kensington, MD, USA. Submitted to WHO by International Technical Caramel Association (as referred to by JECFA, 1987).
13. Adams .K, Allen JA, Brooker PC, Jones E and Proudlock RJ,(1992). Assessment of the genotoxic potential of Caramel Colour I in four short-term tests. Food and Chemical Toxicology 30, 397-403(as referred to by SCF, 1997).
14. Fenech M, Chang WP, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E. (2003). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. Mutat. Res .534 :65–75.
15. SAS, 2010. SAS/ STAT Users Guide for Personal Computers Release 9.1 SAS . Institute Inc. Cary and N.C ,USA.
16. Sutandyo N: (2010). Nutritional carcinogenesis. Acta Med-Indones 242(1):36
17. Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I, Kirsch-Volders M. 2006. Chromosomal changes: induction, detection meth¬ods and applicability in human biomonitoring. Biochimie 88(11):1515–1531
18. Kirsch-Volders M, Fenech M. 2002. Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes. Mutagenesis 16(1):51–58.
19. Fenech, M., Kirsch-Volders, M. and Natarajan, A. T. (2010) Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. Mutagenesis, 26, 125–132
20. El-Zein R, Vral A, Etzel CJ: (2011). Cytokinesis-blocked micronucleus assay and cancer risk assessment. Mutag , 26(1):101-106.
21. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R et al (2007): An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis, 28(3):62
22. Bonassi S, El-Zein R, Bolognesi C, Fenech M: (2011). Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. Mutagenesis, 26(1):93-10
23. Luzhna.L, Kathiria.P and Kovalchuk.O. (2013). Micronuclei in genotoxicity assessment : from genetics to epigenetics and beyond. Micronuclei – genetics and epigenetics .4(1) .
24. Lee, J. W., Thomas, L. C., Jerrell, J., Feng, H., Cadwal&Schmidt, S. J. (2011). Investigation of thermal decomposition as the kinetic process that causes the loss of crystalline structure in sucrose using a chemical analysis approach (Part II). J. Agr & Food Chem , 59(2), 702-712.
25. Kowalski, M S., Lukasiewicz, A. Duda-Chodak ,Gabriela Zięć, (2013) 5-Hydroxymethyl-2-Furfural(HMF)–Heat-InducedFormation, Occurrence in Food and Biotransformation – a Review. Pol. J. Food Nutr.Sci., 63(4).
26. Hanawa, N., Shinohara, M., Saberi, B., Gaarde, W. A., Han, D., and Kaplowitz, N. (2008). Role of JNK translocation to mitochondria leading to inhibition of mitochondria bioenergetics in acetaminophen-induced liver injury. J.Biol. Chem. 283, 13565–13577.
27. Durling.L(2008) .The effect on chromosomal stability of some dietary constituents. ACTA UNIVERSITATIS UP-

SALIENSIS UPPSALA. Fac.of Sci and Tech 446.50
28. Pingarilho M, Oliveira NG, Martins C, Gomes BC, Fernandes AS, Martins V, Labilloy A, Lima JP, Rueff J and Gaspar JF. (2013) Induction of Sister Chromatid Exchange by acrylamide and glycidamide in human lymphocytes: Role of polymorphisms in detoxification and DNA-repair genes in the genotoxicity of glycidamide. Mut.Res , 752, 1- 7.

cytogenetic effect of caramel coloring in the blood cells of the human lymph

Aklas M. Farhan[1], Mohemmed Omar[2], Nahi Y. Yaseen[3]

1 Ministry of Sciences and technology/ Environment and Water Res.
2 Department of Food Science. &Biotechnolog/ Baghdad University
3 Iraqi Cancer Center and Medical Genetic Research/ Al-Mustansiriya University

Abstract:

Caramel food colorings which are used widely in products and processed foods , as used in the manufacture of sweets and soft drinks , and in recent years has raised a lot of doubts and warnings about its use . The fact that these pigments have direct contact to human health , especially children , and due to the lack of studies illustrate precisely the toxic effects and genetic these colorings , this study was to shed light on the effect of cytogenetic for dyes caramel (Category IV) , in different concentrations (5,10,15,20) µg / mL , blood cells in human lymphocytes (in vitro) Using cytogenetics Parameters (Mitotic Index(MI) ,chromosomal aberrations(CA) , and Micronucles (MN). These results indicate that the colorings caused chromosomal changes consisted of The Chromosome Aberration represented by chromosomal and chromatid breaks, chromosomal and chromatid gap, and dicentric chromosome, also caused a reduction in(Mitotic Index(MI) and increase of micronuclei .