فعالية تضاد التطفير لمركب الكركمين النقي أتجاه المطفر رباعي كلوريد الكاربون في الفئران

لبيب احمد الزبيدي* نورية عبد الحسين علي** سعد محمد ندا***

الملخص

أجري هذا البحث للكشف عن التأثيرات السمية الوراثية والتطفيرية وفعالية تضاد التطفير لأحد مركبات نبات الكركم (الكركمين النقي) ومقارنته بفيتامين C اتجاه مركب رباعي كلوريد الكاربون CCl_4 في داخل الجسم الحي (*in vivo*) باستعمال نظام اللبائن وبالاعتماد على بعض اختبارات الوراثة الخلوية (معامل الانقسام الخيطي وتردد النوى الصغيرة). أستخدم تركيزان للكركمين النقي هما 200 و400 ملغم/كغم من وزن الجسم لاختبار سميته الوراثية، وتم انتخاب التركيز الأمثل للكركمين النقي الذي أعطى نتائجاً أفضل بمعنوية ($p\leq0.05$) مقارنة بالحالة الطبيعية (السيطرة السالبة) ومعاملة بفيتامين C (المقارنة) والمركب رباعي كلوريد الكاربون (سيطرة موجبة) كل على انفراد. أجري التداخل بين التركيز الأمثل مركب الكركمين النقي 200 ملغم/كغم والمركب CCl_4 بشكل معاملتين (قبل المطفروبعده) لمعرفة الآلية التي يعمل بها هذا المركب في منع أو تقليل الأثر السمي الوراثي للمركب CCl_4. لم يظهر الكركمين النقي تأثيرات سمية وراثية اوتطفيرية في التركيز 200 ملغم/كغم وعلى مستوى النظام اللبائني المستخدم. اظهر الكركمين النقي 200ملغم/كغم كفاءة عالية في منع او تقليل الأثر السمي الوراثي للمركب CCl_4 ،فقد أدى الى رفع قيمة معامل الانقسام الخيطي وخفض تردد النوى الصغيرة وبمعنوية ($p\leq0.05$) مقارنة ببقية المعاملات، وكان الفعل أكثر إيجابية وبمعنوية عند استعمال الكركمين النقي 200 ملغم/كغم قبل المركب CCl_4 (المطفر) وبدرجة أقل عند معاملة الحيوانات بالكركمين النقي 200 ملغم/كغم بعد المطفر (مركب CCl_4).

لذا يمكن تصنيف فعل هذا المركب في نظام اللبائن لأنه من المثبطات المباشرة **Desmutagens** بالدرجة الاولى ومن المثبطات الحيوية **Bioantimutagens** بالدرجة الثانية.

المقدمة

تعاني المادة الوراثية لخلايا الكائن الحي من اضطرابات وراثية مختلفة نتيجة التعرض الى عوامل بيئية مختلفة متمثلة بالعوامل الفيزيائية او الكيميائية او الحياتية مؤدية إلى حدوث تغييرات وراثية تطرأ على الجينات او الكروموسومات مسببة حدوث الطفرات الوراثية التي تعد بمثابة مرحلة البداية **Initiation** لعملية التسرطن **Carcinogenesis** (1). تشير الدراسات والبحوث على الحيوانات المختبرية الى أن المراحل الثلاث التي ينشأ عنها السرطان يمكن أن تُعَدَلْ أو تُثَبطْ من خلال حثها من المركبات الموجودة في الأغذية وان مثل هذه المركبات لها القدرة على تثبيط المسرطنات كيميائياً ودعى بالمضادة للتسرطن **Anticarcinogens** (2). ينشأ التطفير **Mutagenesis** والتسرطن **Carcinogenesis** من قاعدة واحدة وان هناك تلازماً وثيقاً في صفات المواد المطفرة والمسرطنة. إن اعتراض مراحل توالد السرطان من مكونات طبيعية أو صناعية غير سامة التي تنشيء آفاقاً علاجية واعدة وفعالة في تخفيض مخاطر السرطان ومنها مكونات عديدة لنباتات غذائية تدعى بمجموعها الكيميائيات النباتية التي تعرف بامتلاكها خصائص حماية كيميائية أساسية، وتحتوي الخضراوات والفواكه على العديد من المكونات الفعالة ضد السرطان ومنها **Flavonoids, Carotenoids, Phenolic acids, Glucosinolates, Terpenes Organosulfur compounds, Phytoestrogens** ومركبات أخرى (2).

* وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق.

** معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا- جامعة بغداد- بغداد، العراق.

*** مركز التقانات الإحيائية- جامعة النهرين- بغداد، العراق.

وبصورة عامة صنفت المواد المضادة للتطفير إلى صنفين أساسين الاول المثبطات المباشرة **Desmutagens** التي تمثل المواد جميعها التي توقف عمل المطفر أو سوابقه **Precursors** قبل احداث الضرر في المادة الوراثية ومن ثم فان عمل هذا النوع من المواد يكون خارج الخلية ويسمى بالمثبطات خارج الخلية، إذ أنها تظهر الصفة المضادة للتطفير بالعمل على تثبيط التنشيط الايضي للمواد المطفرة أو منعها أو متأيضاتها من الوصول إلى المادة الوراثية المتمثلة بجزيئة **DNA**، أما الصنف الثاني فيدعى بالمثبطات الحيوية **Bioantimutagens** التي تعمل على حماية المادة الوراثية بمنع تثبيت الطفرات ومن ثم تعمل على الحد من ضرر المطفر بعد اصابة المادة الوراثية به وبهذا يكون عمل هذا النوع من المواد داخل الخلايا وتسمى المثبطات داخل الخلية (3). يسبب مركب رباعي كلوريد الكاربون سمية واضحة للكبد من خلال تحطم خلاياه أو تضررها بتنخر وتشحم الكبد، وهو من المواضيع المهمة التي تناولها الباحثون بعد منتصف القرن المنصرم (4). لقد ازداد استهلاك الكركم كثيراً في العديد من البلدان في السنوات الاخيرة لما لهذا النبات من قابلية على حماية الخلايا من الطفرات والوقاية من بعض الامراض السرطانية لاحتوائها خليط من المركبات الطبيعية التي تقوم بمنع المواد المطفرة والمسرطنة من الحاق الضرر بالمادة الوراثية من خلال تفاعلات أيضية متداخلة مع المسارات الحيوية لتلك المواد في الجسم. لذا هدفت الدراسة الى تقييم السمية الوراثية لمركب الكركمين النقي مقارنة بفيتامين C. تحديد التركيز الأمثل وتقويم الفعالية المضادة للتطفير لمركب الكركمين النقي لمنع او تقليل الاضرار الوراثية الناجمة عن استعمال مركب رباعي كلوريد الكاربون CCl_4.

المواد وطرائق البحث

حضر محلول الفوسفات القياسي (**Phosphate buffer**) حسب الطريقة التي ذكرها **Hudson** و**Hay** (5). ومحلول كلوريد البوتاسيوم (**Potassium chloride solution**)، بموجب ما جاء في **Atlas** وجماعته (6). ومحلول الكولجسين (**Colchicine solution**) حيث ذوبت حبة واحدة (**1** ملغرام) من الكولجسين في مليلتر واحد من الماء المقطر المعقم وحقن كل حيوان بمقدار **0.25** مليلتر من محلول الكولجسين في غشاء الخلب (**Intraperitonial membrane**) قبل التشريح بمدة **2.5–3** ساعات واستخدم المحلول آنيا بعد تحضيره. حضر محلول التثبيت (**Fixative solution**) حسب طريقة **Allen** وجماعته (2). حضر المحلول صبغة كمزا (**solution of Giemsa stain**) حسب طريقة **Metcalif** وجماعته (17). وفي اختبار الكركمين النقي على نظام اللبائن. استعملت جرعتان من الكركمين النقي المنتج في شركة **Fluka** السويسرية وهي (**200** ملغم/كغم، **400** ملغم/كغم) وفيتامين C بجرعة **180** ملغم/كغم كمجموعة مقارنة ومركب CCl_4 بجرعة **3.2** ملغم/كغم كمجموعة سيطرة موجبة (مجموعة كشف) والماء المقطر كمجموعة سيطرة سالبة، لدراسة التاثيرات الوراثية لها في الحيوانات المختبرية حيث تم التجريع عن طريق الفم وباستخدام محقنة حورت لهذا الغرض.

استخدمت في تجارب هذه الدراسة ذكور الفئران السويسرية البيضاء من نوع ***Mus musclus*** بمعدل عمر يتراوح بين **8–12** اسبوعاً التي جهزت من مركز الأجنة وعلاج العقم/جامعة النهرين ومن كلية العلوم/جامعة بغداد ودائرة الرقابة الدوائية/وزارة الصحة، وزعت الفئران داخل أقفاص بلاستيكية بمعيئة مجاميع وعلى وفق حاجة التجربة في غرفة تتراوح درجة الحرارة فيها بين **23–25**م°، وأعطيت هذه الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة المصنعة محليا التي تتكون من: مجروش الحنطة **30**% ومجروش الشعير**24.50**% ومجروش الذرة الصفراء **22.50**% وفول الصويا **15.20**% و بروتين حيواني **7.15**% وملح الطعام **0.45**% وحجر الكلس **0.2**%. حضر تركيزان من مركب الكركمين النقي وكانت **200** و**400** ملغرام/كغم بأذابة **100** ملغرام من مركب الكركمين النقي في **2** مليلتر **PBS** و**200** ملغم من الكركمين النقي في **2** مليلتر على التوالي، وحُسبت التراكيز على اساس وزن الفأر. اذ ضمت هذه

التجربة 60 فأراً مقسمة على 5 مجاميع كل مجموعة تحوي على 12 فأراً، جرع 24 فأراً بالتركيزين المختلفين لمركب الكركمين النقي، كل 12 فأراً لتركيز معين بينما جرعت 12 فأراً بالماء المقطر وعُدت سيطرة سالبة وجرعت 12 فأراً أخرى بالمركب CCl_4 بتركيز 3.2 ملغم/كغم وعُدت سيطرة موجبة، وجرعت 12 فأراً أخرى بفيتامين C بجرعة 180ملغم/كغم وعُدت مجموعة مقارنة، ومن خلال هاتين السيطرتين والمقارنة بينهما يمكن إعطاء فكرة أولية عن التركيز الامثل لمركب الكركمين النقي وكانت كمية الجرعة 0.1 مليلتر مدة سبعة أيام ما عدا CCl_4 اذ كانت كمية الجرعة 0.1 مليلتر ليوم واحد فقط بعدها جرعت بالماء، وقسمت كل مجموعة الى قسمين خصص القسم الاول لاختبارات النوى الصغيرة (Micronucleus)، ومعامل الانقسام الخلوي (Mitotic Index).

دراسة التداخل بين مركب الكركمين النقي والمركبCCl_4

فعالية مركب الكركمين النقي عند المعاملة قبل المركب CCl_4

خصص لهذه التجربة 24 فأراً منها ثمانية جرعت بالتركيز الامثل لمركب الكركمين النقي بجرعة 200 ملغرام/ كغم. وثمانية أخرى جرعت بفيتامين C بجرعة 180ملغم/ كغم (مجموعة مقارنة)، والثمانية الأخيرة جرعت بالماء المقطر (مجموعة سيطرة). وفي تجربة منفصلة خصص 36 فأراً منها 12 فأراً جرعت بالتركيز الامثل لمركب الكركمين النقي الذي هو 200 ملغرام/كغم. و12 أخرى جرعت بفيتامين C بجرعة 180ملغم/كغم (مجموعة مقارنة)، و12 فأراً الأخيرة جرعت بالماء المقطر (مجموعة سيطرة)، واستخدمت لاختبارات معامل الانقسام الخيطي لخلايا الخصى. تم تجريع المجموعة الاولى بالماء المقطر لمدة سبعة ايام بعدها جرعت بالمركب CCl_4 بجرعة 3.2 ملغم/ كغم في اليوم الثامن، وشرحت هذه الفئران بعد 24ساعة من آخر جرعة. وجرعت المجموعة الثانية بفيتامين C لمدة سبعة أيام بعدها جرعت بالمركب CCl_4 بجرعة 3.2 ملغم/كغم في اليوم الثامن، وشرحت هذه الحيوانات بعد مرور 24 ساعة من اخر جرعة. وتم تجريع المجموعة الثالثة بالتركيز الامثل لمركب الكركمين النقي 200 ملغم/كغم لمدة سبعة أيام، بعدها تم تجريعها بالمركب CCl_4 بالتركيز 3.2 ملغم/ كغم لليوم الثامن، وشرحت هذه الحيوانات بعد مرور 24 ساعة من اخر جرعة. ضمت مجموعة السيطرة الموجبة ثمانية فئران تم تجريعها بالمركب CCl_4 والماء المقطر، وضمت مجموعة المقارنة ثمانية فئران تم تجريعها بالمركب CCl_4 وفيتامين C. أما المجموعة الثالثة ضمت ثمانية فئران تم تجريعها الكركمين النقي بجرعة 200ملغم/كغم، وكانت كمية الجرعة التي تعطى للفأر هي 0.1 مليلتر للكركمين النقي وفيتامين C وللمركب CCl_4. أجريت اختبارات معامل الانقسام الخلوي والنوى الصغيرة.

فعالية مركب الكركمين النقي عند المعاملة بعد المركب CCl_4

خصص لهذه التجربة 24 فأراً قسمت كما في الفقرة السابقة ولكن تم تجريع الحيوانات بالمطفر رباعي كلوريد الكاربون بعد تجريعها بفيتامين C ومركب الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم، وشرحت الفئران بعد مرور 24 ساعة من اخر جرعة. اتبعت طريقة Evans وجماعته (10) في تحضير الكروموسومات من الخلايا الجنسية وطريقة Stich وSan (20) في اختبار معامل الانقسام الخيطي (Mitotic Index Assay). وحسبت النسبة المئوية للانقسام الحاصل في تلك الخلايا على وفق المعادلة الآتية:

$$\text{معامل الانقسام MI} = \frac{\text{عدد الخلايا المنقسمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا (الخلايا المنقسمة و غير المنقسمة)}} \times 100$$

اختبار تردد النوى الصغيرة Micronucleus Test

اعتمدت طريقة Schmid (21) وبحسب الطريقة المحورة التي استخدمها الربيعي (1) لاجراء هذا الفحص. وتم حساب عدد الخلايا الحاوية على النوى الصغيرة من بين 1000 خلية من نوع خلايا الدم الحمراء متعددة الحبيبات (Polychromatic Erythrocyte- PCE) وحسبت النسبة المئوية لها. أجري التحليل الاحصائي لأستخراج المعدلات ± الخطأ القياسي. واختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن متعدد الحدود (9)، ولاختبار الفروق بين المتوسطات في تجارب التداخل للمقارنة بين المعاملة بفيتامين C والكركمين النقي أستعمل اختبار T-test حسب Steel و Torrie (22).

النتائج والمناقشة

انتخاب التركيز الأمثل لمركب الكركمين النقي

تعد دراسة السمية لمركب الكركمين النقي المرحلة الأولى لمعرفة التأثير السمي لمركب الكركمين النقي ومقارنته بالتأثير السمي للمعاملات الأخرى، ولانتخاب التركيز الأمثل للكركمين النقي في الفئران البيض. درست التأثيرات الوراثية للكركمين النقي بجرعتيه 200 و400 ملغم/كغم من وزن الجسم كل على انفراد في ذكور الفئران البيض من خلال عدد من المعايير التي شملت معامل الانقسام لخلايا الخصى Testes cells وتردد النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم. استعمل اختبار تردد النوى الصغيرة كاختبار حيوي حساس للكشف عن المواد السامة وراثياً إذ تمت ملاحظة نوية صغيرة في سايتوبلازم خلايا نقي العظم تحصل نتيجة كسور في الكروموسوم أو فقدان لكروموسوم كامل. ارتفعت نسبة تردد النوى الصغيرة في خلايا Polychromatic erythrocytes لحيوانات السيطرة الموجبة المعاملة بالمركب CCl_4 وبمعنوية مقارنة بالسيطرة السالبة، وعند إعطاء فيتامينC انخفض المعدل وبمستوى معنوي ($p\leq0.05$) مقارنة بين كل من السيطرة السالبة والموجبة والكركمين بجرعة 400 ملغم/كغم، أما الكركمين النقي بجرعة200 ملغم/كغم فأعطى انخفاضاً وبمعنوية في المعدل ($p\leq0.05$) عند المقارنة بين كل من السيطرة السالبة، الموجبة والكركمين بجرعة 400 ملغم/كغم، إلا أن الفرق لم يكن معنوياً عند المقارنة مع مجموعة المقارنة. بينما أعطى الكركمين النقي بجرعة 400 ملغم/كغم فرقاً معنوياً في معدل تردد النوى الصغيرة مقارنة بين كل من السيطرة السالبة والموجبة (الجدول 1). أشارت نتائج اختبار معامل انقسام خلايا الخصى للفئران البيض في الجدول (1) أن معاملة السيطرة الموجبة بالمركب CCl_4 أدت إلى الانخفاض وبمعنوية في معدل معامل الانقسام مقارنة مع السيطرة السالبة، بينما عند التجريع بفيتامين C ارتفع المعدل، واكتسب هذا الارتفاع فرقاً معنوياً عند المقارنة بكل من السيطرة السالبة والموجبة. وبعد إعطاء الكركمين بجرعة 200 ملغم/كغم ظهر ارتفاع معنوي في المعدل مقارنة بين كل من السيطرة السالبة والموجبة ومجموعة المقارنة. وبعد زيادة جرعة الكركمين 400 ملغم/كغم ظهر ارتفاع في المعدل وبفروق معنوية عند المقارنة بين كل من السيطرة السالبة والموجبة، بينما ظهر انخفاض معنوي مقارنة مع المعاملة بالكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم، إلا انه لم يصل إلى مستوى المعنوية عند المقارنة بين مجموعة المقارنة.

الجدول 1: تأثير مركب الكركمين النقي في الاختبارات السمية الوراثية المجرع للفئران مدة سبعة أيام

المعاملة / الفحص	السيطرة السالبة (الماء المقطر)	مجموعة المقارنة (فيتامين C بجرعة 180ملغم/كغم)	السيطرة الموجبة CCl_4 بجرعة 3.2 (ملغم/ كغم)	الكركمين النقي (بجرعة 200 ملغم/كغم)	الكركمين النقي (بجرعة400 ملغم/ كغم)
	المعدل± الخطأ القياسي (%)				
Micronucleus	c0.27±3.81	d0.18±1.62	a 0.4±10.5	d 0.1±1.5	b 0.1±5.2
Mitotic Index	c 0.09±4.46	b0.03±8.23	d 0.06±2.16	a 0.08±9.31	b 0.03±8.15

المعدلات التي تحمل حروفاً متماثلة ضمن الصف الواحد لاتختلف معنويا، الاحتمالية ($p\leq0.05$)، معدلات ستة مكررات.

لوحظ من نتائج الاختبارات السمية الوراثية أن المركب CCl_4 اظهر قابلية واضحة على حث تكوين النوى الصغيرة في خلايا Polychromatic erythrocytes لحيوانات السيطرة الموجبة، وبلغت نسبة تكون النوى الصغيرة في تلك الفئران 10.5% مقارنة مع السيطرة السالبة التي بلغت فيها النسبة التلقائية لتكون النوى الصغيرة 3.8% وشكل الاختلاف فرقا معنوياً ($p<0.05$)، وهذا يعني أن هذا المركب أثر في عملية انقسام هذه الخلايا من خلال تثبيط تكوين خيوط المغزل أو إحداث خلل في تركيبتها كما بينه Behera و Bhunya (5). في حين سجل مركب الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم انخفاضا وبمعنوية بنسبة تردد النوى الصغيرة مقارنة مع السيطرة السالبة الموجبة التي بلغت 1.5%، إلا انه عند زيادة جرعة مركب الكركمين النقي إلى 400 ملغم/كغم ارتفعت النسبة مقارنة مع السيطرة السالبة ولكن كانت النسبة اقل من فئران السيطرة الموجبة. يعد معامل الانقسام الخيطي أحد المقاييس التي تستخدم لمعرفة الأضرار الحاصلة للمادة الوراثية ويعبر عنه بالزيادة أو النقصان عن الحد الطبيعي للخلايا المنقسمة في الأطوار المختلفة لدورة الخلية. إن الكشف عن الخلل أو الضرر الوراثي genetic damage في الخلايا الجنسية germ cells مهم جداً، مادام هذا التأثير سينعكس وسيستمر غالباً الى الأجيال القادمة. ومن المعروف كذلك أن النبيبات المنوية seminiferous tubules للخصى تحتوي على مدى واسع التنوع من الخلايا، إذ أن الخلايا أمهات النطف الجذعية Spermatogonial stem cells تعطي مجتمعا مختلفاً من الخلايا وهذه الخلايا المختلفة الأنواع تختلف أيضا من حيث حساسيتها للعوامل المطفرة ومن ثم فهي تعطي فرصة جيدة للكشف عن القابلية السمية الوراثية للكثير من المواد. اوتعد الخلايا الجنسية أكثر حساسية من الخلايا الجسمية (خلايا نقي العظم والطحال) وهذا ما أشار إليه Mu و Zhu (18) إذ بيّنا أن الخلايا الجنسية تكون أكثر حساسية من الخلايا الجسمية لبعض المركبات الكيميائية. أظهرت النتائج ارتفاعاً في معامل الانقسام عند المعاملة بالكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم بينما سجلت المعاملة بالمركب رباعي كلوريد الكاربون أوطأ معدل لمعامل الانقسام مقارنة مع السيطرة السالبة، وبتزامنها مع نتائج تردد النوى الصغيرة تبين إن لمركب رباعي كلوريد الكاربون تأثير سمي وراثي للخلايا وعلى العكس فيما يخص مركب الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم الذي اظهر كفاءة في حماية الخلايا من الطفرات الوراثية. يؤكد هذا عدم امتلاك مركب الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم أي تأثيرات سمية وراثية أو مطفرة سواء أكانت على مستوى خلايا نقي العظم أم على مستوى الخلايا الجنسية. ولكن نلاحظ وجود انخفاض أو زيادة في قيم الاختبارات الوراثية عند زيادة كمية الجرعة وان كانت لم تشكل فرقاً معنوياً عند مقارنتها مع السيطرة السالبة مما يفسر حصول التلف الوراثي Genetic damage ولا سيما عند التراكيز العالية. وهذا ما أكده Kassi وجماعته (13) من أن عصائر النباتات الصليبية تحتوي على مركبات Isothiocyanates تسبب التسمم الوراثي التي تعمل بصورة مباشرة على تلف DNA خاصة في التراكيز العالية سواء أكانت في النظام البكتيري أم في نظام اللبائن. من هذا يتضح أن الزيادة في تركيز المركبات الطبيعية لأي نبات قد يعود بالآثار السلبية إذ تصبح المواد ذات خاصية سمية وراثية. ذكر Bader وجماعته (4) إن المواد التي تظهر فعالية مضادة للتطفير تتحول من حالة إيجابية إلى سلبية أي تصبح ذات خاصية سمية وراثية بزيادة التركيز ومن هذا يتضح أن كل آلية في الخلية تحتاج الى تركيز معين من العناصر والمركبات لتؤدي عملها في الوقاية.

تأثيرات السمية الوراثية لمركب الكركمين النقي المجرع للفئران قبل مركب رباعي كلوريد الكاربون

أظهرت نتائج اختبار تردد النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم المدونة في الجدول (2) انخفاضاً عالياً في نسبة تكوين النوى الصغيرة في خلايا Polychromatic erythrocytes للحيوانات المعاملة بفيتامين C قبل المركب

CCl_4 مقارنة بالسيطرة، بحيث اكتسب فرقاً معنوياً عند مستوى ($p\leq0.05$). عند إعطاء الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم وانخفض المعدل بمستوى معنوي عند المقارنة مع السيطرة، ولم يسجل فرقاً معنوياً عند المقارنة بفيتامين C ($p\leq0.05$). بينما أوضح الجدول (2) نتائج معامل الانقسام الخيطي لخلايا الخصى للفئران البيض حيث أن المعاملة بفيتامين C قبل المركب CCl_4 أدت إلى ارتفاع في معدل معامل الانقسام الخيطي ووصل الى المعنوية مقارنة مع السيطرة، بينما أدى إعطاء الكركمين بجرعة 200 ملغم/كغم قبل المركب CCl_4 إلى ارتفاع المعدل، واكتسب هذا الارتفاع فرقاً معنوياً عند المقارنة بالسيطرة وبفيتامينC باحتمالية ($p\leq0.05$). وبينت نتائج معامل الانقسام الخيطي لخلايا الخصى للفئران البيض للمعاملة قبل المركب CCl_4 مدة حضن خمسة وثلاثين يوماً والموضحة في الجدول (3) ارتفع معدل معامل الانقسام عند المعاملة بفيتامين C قبل المركب CCl4 مقارنة مع السيطرة، فوصل الارتفاع الى المعنوية ($p\leq0.05$)، كذلك أدى إعطاء الكركمين بجرعة 200 ملغم/كغم وزن الجسم قبل المركب CCl_4 إلى ارتفاع المعدل، واكتسب هذا الارتفاع فرقاً معنوياً عند المقارنة مع السيطرة، إلا انه لم يظهر فرقاً معنوياً بالمقارنة مع مجموعة فيتامين C. وأظهرت نتائج اختبار أحادية المجموعة الكروموسومية **Haploid Chromosomes assay** المدونة في الجدول (3) ارتفاعاً ملحوظاً للنسبة المئوية لأحادية المجموعة الكروموسومية لخلايا خصى ذكور الفئران البيض المعاملة بفيتامينC قبل المركب CCl_4 مقارنة مع السيطرة، واكتسب فرقاً معنوياً ($p\leq0.05$). فضلا عن ذلك ارتفع المعدل عند إعطاء الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم، واكتسب فروقاً معنوية عند المقارنة مع السيطرة والمعاملة بفيتامين C بمستوى ($p\leq0.05$) انخفض معدل النسبة المئوية لمضاعفة عدد المجموعة الكروموسومية **Diploid Chromosomes** عند المعاملة بفيتامين C قبل المركب CCl_4 بمستوى معنوي مقارنة بالسيطرة، أدى إعطاء الكركمين بجرعة 200 ملغم/كغم وزن الجسم قبل المركب CCl_4 إلى انخفاض المعدل أعلى من بقية المعاملات، واكتسب هذا الانخفاض فرقاً معنوياً عند المقارنة مع السيطرة ومجموعة فيتامين C ($p\leq0.05$).

الجدول2: تأثيرات السمية الوراثية لمركب الكركمين النقي المجرع للفئران قبل مركب رباعي كلوريد الكاربون

المعاملة / الفحص	(الماء المقطر+ CCl_4)	(فيتامينC 180ملغم/كغم +CCl_4)	(الكركمين النقي 200 ملغم/كغم + CCl_4)
	المعدل± الخطأ القياسي (%)		
Micronucleus	c0.28±10.86	b0.06±5.21	a0.38±5.15
Mitotic Index(7) day	a0.04±1.62	b0.03±4.01	b 0.04±4.17
Mitotic Index (35)days	a0.13±3.11	b0.24±6.62	b 0.2±7.1
أحادية المجموعة الكروموسومية	a0.44±29.4	b 0.2±74.4	c 0.3±79.4
متضاعفة عدد المجموعة الكروموسومية	b0.4±70.6	a 0.2±25.6	a 0.3±20.6

المعدلات التي تحمل حروفاً متماثلة ضمن الصف الواحد لاتختلف معنوياً، الاحتمالية $p\leq0.05$، معدلات ستة مكررات.

تأثيرات الوراثية لمركب الكركمين النقي المجرع للفئران بعد مركب رباعي كلوريد الكاربون مدة سبعة أيام

أظهرت النتائج المدونة في الجدول (4) لاختبار تردد النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم انخفاضاً عالياً في نسبة تكوين النوى الصغيرة في خلايا **Polychromatic erythrocytes** للفئران المعاملة بفيتامين C بعد المركب CCl_4 مقارنة بالسيطرة بحيث اكتسب فرقاً معنوياً. وعند إعطاء الكركمين النقي انخفضت النسبة، واكتسب فرقاً معنوياً عند المقارنة مع السيطرة، ولم يكتسب فرقاً معنوياً مقارنة مع مجموعة فيتامين C. أعطت النتائج في الجدول (4) صورة واضحة لفعالية المعاملة بفيتامين C بعد المركب CCl_4 حيث أدت إلى ارتفاع معنوي في معدل معامل الانقسام الخيطي، مقارنة مع السيطرة، كذلك أدى إعطاء الكركمين النقي بعد المركب CCl_4 إلى ارتفاع المعدل وبمعنوية عند

المقارنة مع السيطرة والمعاملة بفيتامين C بمستوى احتمالية ($p\leq0.05$). بينت النتائج في الجدول (4) أن المعاملة بفيتامين C بعد المركب CCl_4 مدة سبعة أيام وحضن مدة خمسة وثلاثين يوماً أدت إلى ارتفاع في معدل معامل الانقسام خلايا الخصى للفئران البيض مقارنة مع السيطرة واكتسب فرقاً معنوياً، بينما أدى إعطاء الكركمين بجرعة 200 ملغم/كغم وزن الجسم قبل المركب CCl_4 إلى ارتفاع المعدل، واكتسب هذا الارتفاع فرقاً معنوياً عند المقارنة مع السيطرة، إلا انه لم يظهر فرقاً معنوياً مقارنة مع مجموعة فيتامين C. أظهرت النتائج المدونة في الجدول (4) ارتفاعاً ملحوظاً بمستوى معنوي للنسبة المئوية لأحادية المجموعة الكروموسومية لخلايا خصى الفئران المعاملة بفيتامين C بعد المركب CCl_4 مقارنة بالسيطرة. وارتفعت النسبة بعد إعطاء الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم واكتسبت فرقاً معنوياً عند المقارنة مع السيطرة، بينما لم يصل الى مستوى المعنوية مقارنة مع فيتامين C، بينما تبين نتائج الجدول (4) ظهور انخفاض معنوي لمعدل النسبة المئوية لمضاعفة عدد المجموعة الكروموسومية لذكور الفئران البيض بعد إعطاء الكركمين200 ملغم/كغم وزن الجسم قبل المركب CCl_4 مقارنة بين السيطرة ومجموعة المعاملة بفيتامين C بعد المركب CCl_4 عند مستوى ($p\leq0.05$).

الجدول 3: تأثيرات الوراثية لمركب الكركمين النقي المجرع للفئران بعد مركب رباعي كلوريد الكاربون مدة سبعة أيام

المعاملة / الفحص	(CCl_4+ الماء المقطر)	(مركب CCl_4+فيتامين C180 ملغم/كغم)	(مركب CCl_4+الكركمين النقي200 ملغم/ كغم)
	المعدل± الخطأ القياسي (%)		
Micronuclei	a 0.332±9.742	c 0.07±6.25	b 0.083±6.155
Mitotic Index7day	b 0.096±3.742	a 0.07±7.12	a 0.05±7.33
Mitotic Index 35 days	b 0.05±3.37	a 0.10±8.74	a 0.052±8.71
أحادية المجموعة الكروموسومية	c 3±25	a 6±85	d 5±90
متضاعفة عدد المجموعة الكروموسومية	a 6±75	b 3±15	b 3±10

المعدلات التي تحمل حروفاً متماثلة ضمن الصف الواحد لاتختلف معنوياً، الاحتمالية $p\leq0.05$، معدلات ستة مكررات.

بعد أن تم التأكد من انعدام التأثيرات السمية والتطفيرية للجرعة المثلى لمركب الكركمين النقي بالاعتماد على نتائج الاختبارات المعتمدة في هذه الدراسة، أجريت عملية التداخل بين مركب الكركمين والمطفر CCl_4 الذي يسبب تأثيرات سمية وتطفيرية يؤدي الى منع انقسام الخلايا عن طريق إحداث ترابط في شريط DNA نفسه أو بين شريطين مختلفين فضلاً عن تثبيط بنائه. كما يمكن أن تحدث عملية تنشيط أيضي للمطفر ينتج عنه مشتقات فعالة تؤدي الى حدوث كسور كروموسومية ربما تتحول الى نوى صغيرة داخل سايتوبلازم الخلية، وقد شملت عملية التداخل معاملتين: الأولى إعطاء المركب قبل المطفر، والثانية إعطاء المركب بعد المطفر، وكان الهدف من هاتين المعاملتين هو التعرف على الآلية التي يعمل بها المركب في تثبيط الأثر السمي الوراثي للمطفر CCl_4 وقد تم تجريع الحيوانات في المعاملتين (إعطاء المركب قبل المطفر) و(إعطاء المستخلص بعد المطفر) حيث جرعت (قبل) و(بعد) سبعة أيام. وبصورة عامة فالمثبطات التي تكون فعالة في حالة معاملة الحيوانات قبل المطفر يمكن أن تكون مثبطات مباشرة للمطفر وتعترض تأثيرات المطفر كيميائياً بتكوين معقدات مع المادة المطفرة أو أحد متأيضاته ومنعها من الدخول الى الخلية أو قد يكون التأثير بالتداخل مع الإنزيمات التي تساعد على تأيض المادة المطفرة بصورة مباشرة وتمنع تحول المطفر البدائي الى الشكل الفعال أو بزيادة فعالية الإنزيمات المزيلة للسمية الموجودة بصورة طبيعية في الجسم. أما المثبطات التي تكون فعالة بعد إعطاء المطفر فتسمى بالمثبطات الحيوية Bioantimutagens إذ تعمل على إصلاح التلف بعد حدوثه بأكثر من آلية تتضمن زيادة الدقة في تضاعف DNA وزيادة كفاءة أنظمة الإصلاح عن طريق زيادة الإصلاح الخالي من الخطأ والتقليل من الإصلاح القابل للخطأ (16). يتضح من هذه النتائج أن مركب الكركمين النقي قد أسهم ايجابياً في توفير الحماية للمادة الوراثية كما ظهر على شكل رفع قيم معامل الانقسام الخيطي (MI). إن إعطاء مركب الكركمين النقي قبل المطفر قد أدى

عملاً مهماً في تقليل الأثر السمي للمطفر CCl_4 وربما يرجع السبب في ذلك الى قدرة المركب من تغيير نفاذية الغشاء الخلوي لخلايا نقي العظم ومنع وصول المطفر الى داخل الخلايا وقد أظهرت هذه الفعالية مركبات Isothiocyanates، مركبات متعددة الفينول، هيدروكسيل الفينول التي تمتلك فعالية تثبيطية مباشرة للمطفر CCl_4 لعملها على رفع قيمة معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي عظم الفأر الى مستوى الحالة الطبيعية (23)، وقد يرتبط المركب مع المطفر أو متأيضاته الفعالة تساهمياً مكونة معقدات تؤدي الى منع دخولها الى الخلية وبالتالي حماية المادة الوراثية من الآثار السامة للمطفر (8). ومن هنا فأن معاملة الحيوانات بالكركمين النقي عملت على حماية الخلايا من الأثر السمي والتطفيري للمطفر لسلوكها في التثبيط المباشر للمطفر CCl_4 ومنع وصول تأثيره إلى داخل الخلية وقد يكون بمنع التنشيط الأيضي له وتثبيط انزيمات Cytochromes P450 أو تقوم بتنشيط الإنزيمات المزيلة للسمية الموجودة بصورة طبيعية في الجسم وزيادة تركيزها مثل انزيم Glutathion-S-transferases (GST)، إنزيم Quinone redactase (QR) (24). قد يعود هذا الارتفاع في قيمة معامل الانقسام عن الحالة الطبيعية بسبب الآليات الدفاعية التي تمتلكها الخلية والتي حفزها الكركمين الذي يعمل على وقف دورة انقسام الخلية عند وجود أي خلل داخل الخلية ناتج من الأثر السمي والتطفيري للمطفرات مما يتيح الفرصة لإنزيمات الإصلاح (DNA repair enzymes) لإصلاح الطفرات بدقة عالية، فضلاً عن منع تكاثر الخلايا غير الطبيعية وحث الموت المبرمج لها (Apoptosis) عند عدم تمكن آليات الإصلاح الموجودة في الخلية من إصلاح الضرر في الخلية (19). لمعرفة ما إذا كانت نسبة الحماية من جراء إعطاء الكركمين بعد المطفر تعود الى عمل المركب في الحد من تأثير المطفر أم لعمليات الإصلاح التلقائية التي تجري داخل الخلية، قورنت نتائجها مع نتائج تجريع الحيوانات بالمطفر فقط إذ إن تأثير المطفر مازال ساري المفعول في الخلايا حتى اليوم الخامس والثلاثين من المعاملة وان قيم معامل الانقسام مازالت مرتفعة عن الحالة الطبيعية (السيطرة السالبة) وأدى هذا الاختلاف فرقاً معنوياً وعلى مستوى احتمال ($p\leq0.05$). وبذلك يمكن أن يُعزى سبب ارتفاع قيمة معامل الانقسام للمعاملات بعد 7 و35 يوما من إعطاء المطفر إلى قدرة المركب على تثبيط التأثير التطفيري للمطفر CCl_4 وتصليح ما تم تدميره بفعل المطفر بتحويرها عمليات تضاعف DNA في الخلايا المطفرة أو زيادة كفاءة الإصلاح الخالي من الخطأ (14). وتجلى ذلك بانخفاض نسبة تردد النوى الصغيرة وارتفاع معامل الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية وارتفاع نسبة الخلايا أحادية المجموعة الكروموسومية Haploid cells عن الخلايا متضاعفة المجموعة الكروموسومية Diploid cells للفئران المجرعة بالكركمين النقي المتداخل مع المطفر مقارنة بفئران السيطرة المجرعة بالماء المقطر متداخل مع المطفر التي أظهرت ارتفاعا في معدل تردد النوى الصغيرة وانخفاضا لمعامل الانقسام والخلايا أحادية المجموعة الكروموسومية وارتفاعا للخلايا متضاعفة المجموعة الكروموسومية، الذي يدل على فعالية المطفر التثبيطية للانقسام الاختزالي التي يجب أن تعانيه الخلايا المولدة للنطف لكي تكتمل دورة توليد النطف. وقد يعود حسب تفسيرنا إلى صفة التضاد للأكسدة للمركب الذي أدى عملاً كبيراً في حماية الدهون المخزونة في الخلية والاحماض الدهنية الموجودة بشكل دهون فوسفاتية في الغشاء السايتوبلازمي للخلية فضلا عن حماية المادة الوراثية DNA والبروتينات من فعل الجذور الحرة الفعالة الناتجة من تأيض المواد المطفرة (4). تعطي نتائج المعاملات المختلفة للحيوانات المختبرية، نتيجة مفادها أن مركب الكركمين النقي يمتلك صفة مضادة للتطفيرمن النوع المباشر Desmutagen بالدرجة الأولى لقدرته على رفع قيم معامل الانقسام الخيطي للخلايا الجنسية بتهيئة هذه الخلايا والحد من التأثيرات السامة للمطفر إذ عمل على منع وصول تأثير المطفر إلى داخل الخلية كما يعد هذا المركب من المثبطات الحيوية للمطفر Bioantimutagen بالدرجة الثانية لأنه عمل على إزالة الآثار السمية للمطفر بتحفيزها أنظمة الإصلاح للخلية أو زيادة كفاءة تضاعف DNA. تشير النتائج المبينة في الجدولين (2 و3) إلى تفوق إعطاء مركب الكركمين النقي قبل CCl_4، وحقق أعلى نسبة حماية وبهذا فهو يمتلك قدرة في اختزال تلف DNA وزيادة

بنائه الذي يعزى إلى تضافر الفعل التراكمي للكركمين النقي مؤديا إلى مضاعفة الفعالية الحيوية أتجاه الآثار السامة للمطفر، إذ أبدى المركب عملاً كبيراً في حماية الخلايا من فعل سموم المواد المطفرة بتراكمه داخل الخلايا بشكل معقد مرتبط مع Glutathione (GSH) الذي ينسحب ايجابيا على مستوى GST داخل الخلايا، وان درجة تراكمه داخل الخلايا مرتبط بقدرته على تحفيز الطور الانزيمي الثاني (enzymes phase II) المتمثل بأنزيمات إزالة السمية منها GST وQR، كذلك طول مدة التجريع توفر وقتاً لتهيئة الجسم للحد من الآثار السمية للمطفر بتنشيط الإنزيمات المزيلة للسمية أو العمل على تحوير آليات دفاعية للحد من تأثيره السمي والوراثي (25). يمكن الاستنتاج بان لمركب الكركمين النقي تاثيرات ايجابية في تقليل مستوى الطفرة التلقائية، وكان هذا التأثير معتمداً على الجرعة، وعدم وجود تأثيرات سمية وراثية للكركمين النقي بجرعة 200 ملغرام/كغم من وزن الجسم على خلايا نقي العظم وخصى للفأر الأبيض، وان اعطاء الكركمين النقي بصورة منفردة او متداخلة قبل المطفر أظهر كفاءة تثبيطية واضحة لازالة التأثيرات الجانبية لمركب رباعي كلوريد الكاربون، وكذلك الحال عند اعطائها بعد المطفر. لذلك يعد عمل الكركمين النقي بجرعة 200 ملغم/كغم من وزن الجسم ضمن المثبطات المباشرة بالدرجة الأولى وضمن المثبطات الحيوية للتطفير بالدرجة الثانية في نظام اللبائن. لذا نوصي بدراسة تأثير الكركمين النقي داخل الجسم الحي على السرطانات المحدثة في حيوانات التجارب وخارج الجسم الحي باستعمال خطوط الخلايا للإنسان. إجراء دراسات تبين أهمية تناول مركبات الأعشاب الطبية في تقليل اثر المطفرات الموجودة في البيئة التي يتعرض لها الإنسان يومياً. نوصي بإعطاء جرعات من الكركم لاسيما الكركمين للأشخاص الذين يعانون من أمراض السرطان والخاضعين للعلاج الكيميائي والإشعاعي لتخفيف اثر المواد الكيميائية والمشعة على الخلايا الحية. توجه المراكز البحثية والجهات ذات العلاقة بهذا المركب الطبي والاقتصادي والصناعي ودراسة مزاياه جميعها.

المصادر

1- الربيعي، الهام عبد الهادي خلف (2005). التأثير المضاد للتطفير *Eruca sativa* والجزر *Daucus carota* في نظامي البكتريا واللبائن، رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية للدراسات العليا، جامعه بغداد– بغداد، العراق.

2- **Allen, J.W.; C.F. Shuler; R.W. Mendes and S.A. Latt (1977). A simplified techinque for *In vivo* analysis of sister chromatid exchanges using 5-bromo-deoxy uridine. Cytogenet. Cell. Genet., 18:231-237.**

3- **Atlas, R.M.; A.E. Brown and L.C. Parks (1995). Manual of Experimental Microbilogy. Mosby Co. New York.**

4- **Badr, F.M.; O.H.M. El-Habit; M. Hamdy and G.A.R. Hassan (1998). The mutagenic versus protective role of vitamin A on the induction of chromosomal aberration in human lymphocyte cultures. Mut. Res. 414: 157-163.**

5- **Behera, B. and Bhunya, S. (1989). Studies on the genotoxicity of asatafin mammalian in vivo system. Mutat. Res., 223: 287-293.**

6- **Bronzetti, G. (1997). The role of antimutagenesis and anticarcinogenesis. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol, 16: 259-262.**

7- **Castenmiller, J.M.; Lauridsen, S.T.; Dragsted, L.O.; Linssen, J.H. and West, C.E. (1999). β-Carotene dose not change markers of enzymatic and nonenzymatic antioxidant activity in human blood. J. Nutr., 129:2162-2169.**

8- **Deflora, S. and C. Ramel (1988). Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcingoenesis classification an overview. Mut. Res. 202: 285-306.**

9- **Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F- test biometrics, 11: 1-42.**

10- Evans, E.; G. Breckon and C. Ford (1964). Am air-drying Method for Meiotic preparation from mammalian testes, Cytogenetics, 3: 289-294.
11- Hertog, M.G.L.; G.V. Poppel and D. Verheovea (1997). Potentially Anticarcinogenic Secondary Metabolites from Fruit and Vegetables *In* Phytochemistry of Fruit and Vegetables, Ed.; F.A. Tomas-Barberan. Clarendon Press: Oxford.
12- Hudson, L. and F.C. Hay (1980). Practical Immunology 2nd Edition. Black Well Scientific Publ., London.
13- Kassie, F.; B. Pool-Zobel; W. Parzefall and S. Knasmuller (1999). Genotoxic effects of benzyl isothiocyanates, a natural chemopreventive agent. Mutagenesis, 14:595-604.
14- Keek, A.S. and J.W. Finley (2004). Cruciferous vegetables: Cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium. Integrative Cancer Therapies, 3:5-12.
15- Kuroda, Y. and Y. Hara (1999). Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. Mut. Res., 436:69-97.
16- Kuroda, Y.; N. Shima; K. Yazawa and K. Kaji (2001). Desmutagenic and bioantimutagenic activity of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in cultured Chinese hamster V79 cells. Mut. Res., 497: 123-130.
17- Metcalf, J.A.; J.I. Gallin; W.M. Nauseef and R.K. Root (1986). Laboratory Manual of Neutrophil Function. Revan Press: New York.
18- Mu, A. and H. Zhu (1990). Induction of chromosomal aberration in mal mouse germ cells by uranyl fluoride containing genriched Uranium. Mutat. Res., 244: 209-218.
19- Sarkar, F. H. and Y. Li (2004). Indole -3- carbinol and prostate cancer. J. Nutr., 134: 3493-3498.
20- Stich, H.F. and R.H.C. San (1981). Short-Term Test for Chemical Carcinogens. Springer Verlag: New York, Heidelberg.
21- Schmid, W. (1976). The Cell Micronucleus Test for Cytogenes Analysis. *In* "Chemical Mutagens Principles and Methods for their Detection" A. Hollaender (Edt.) Vol.4 Plenum Press, New York.
22- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie 1980. Principle and Procedure of Statistics. 2nd Ed. McGraw Hill, New York.
23- Shukla, Y.; B. Svivastava; A. Arora and L.K.S. Chauhan (2004). Protective effects of indole-3-carbinol on cyclophosphamide induced clastogenecity in mouse bone marrow cells, Human and Experimental Toxicology, 23:245-250.
24- Sugiyama, T.; J.I. Nagata; A. Yamagishi; K. Endoh; M. Saito; K. Yamada; S. Yamada and K. Umegaki (2006). Selective protection of curcumin against carbon tetrachloride-induced inactivation of hepatic cytochrome, p:450 isozymes in rats. Life Sci., 78:2188-2193.
25- Zhang, Y. (2001). Molecular mechanism of rapid cellular accumulation of anticarcinogenic isothiocyanates. Carcinogenesis, 22: 425-431.

Iraqi J. Agric. Res. (Special Issue) Vol.16 No.3 2011

ANTIMUTAGENIC OF PURE CURCUMIN AGAINST THE MUTANT CARBON TETRACHLORIDE IN MICE

L.A. Al-Zubaidi* N.A. Ali** S.M. Nida***

ABSTRACT

This study has been carried out in order to determine the toxic, mutagenic effect and antimutagenic activity for one of the curcumin plant compounds which is pure curcumin in comparison with vitamin C against the carbon tetrachloride compound (CCl_4). The effect was studied *in vivo* Mammalian system. This system depended on recording some cytogenetic markers: (Mitotic index, Micronuclei). Two concentrations of pure curcumin 200 and 400 mg/kg of body weight were used to test its cytotoxic and genetic effects in Mammalian system, and to chose the suitable concentration which give best results and significant in comparison with the control, vitamin C(comparison treatment) and carbon tetrachloride compound treatments (positive control) separately. The interaction included two types of treatments (pre - CCl_4 and post-CCl_4) in order to determine the mechanisms of these compounds in preventing or reducing the genotoxic effect of CCl_4, and the following results were obtained. The pure curcumin showed no cytotoxic and mutagenic effects in 200 mg/kg concentration in the mammalian systems level. The pure curcumin (200mg/kg) showed highly performance in preventing or reducing the Cytogenetic and genotoxic effects of CCl_4 compound. It significant increasedly the performance and increased the mitotic index and decreased the micronuclei frequency. And decreased the frequency of micronuclei. It also significantly reduced ($p \leq 0.05$) in comparison with other treatments, the positive effect was over with significant when pure curcumin 200 mg/kg was used as pre-CCl_4 treatment, and to less extent in post-CCl_4 treatment. Therefore, the pure curcumin 200 mg/kg can be considered as desmutagen from one side and bioantimutagen in the other.

* Ministry of Scie. and Tech.- Baghdad, Iraq.
*** Genetic Engineering and Biotech. Institute for Post Graduate Studies- Baghdad Univ., Iraq.
***Biotech. Center- Al-Nahrain Univ. - Baghdad, Iraq.