P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2015 ,(9), (2) :14-31
مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة (JUAPS)
Open Access

دراسة مقارنة لفعالية بروتينات حليب الابل العراقية ضد اربعة انواع من الخلايا السرطانية

سامي عوض محمد محمد قيس العاني

كلية العلوم – جامعة الانبار

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٥/٦
تاريخ النشر: ٣ /٥/ ٢٠١٧
DOI: 10.37652/juaps.2015.124506

الكلمات المفتاحية:
بروتينات،
حليب الابل،
خلايا سرطانية،
MTT،
HSC.

الخلاصة:
هدفت الدراسة الحالية الى اجراء مقارنة لتاثير بروتينات الحليب على المحتوى الدقيق للخلايا السرطانية تم اجراء اختبار High Screening Content(HSC) باعتماد بروتينات الكازائين والشرش المعزول من حليب الابل العراقية كمادة مضادة لخلايا السرطان البشري Human Lung Adenocarcinoma (A549)، ومن اجل تقييم الكفاءة التثبيطية لبروتين الكازائين والشرش ضد انواع مختلفة فقد استعملت اربعة انواع من الخلايا السرطانية A549, MCF7, PC3, HepG2 وتم تحديد نسبة بقاء الخلايا الحية بطريقة اختبار MTT.اظهرت نتائج الدراسة امتلاك حليب الابل لفعالية تثبيطية متباينة تجاه محتوى الخلايا السرطانية الاربعة MCF-7, PC3, A549, HepG2. وعند دراسة التركيز المثبط لنصف الخلايا المدروسة IC50 تجاه هذه الخلايا وجد انه كان اكثر فعالية تجاه الخلايا (A549) ثم (MCF-7) ثم (HepG2) ثم (PC3) لبروتينات الشرش. والتركيز المثبط لنصف الخلايا المدروسة لبروتين الكازائين كان اكثر فعالية عند الخلايا (HepG2) ثم (PC3) ثم (MCF-7) ثم (A549). اظهر تنتائج اختبار المحتوى الخلوي الدقيق (HSC) الذي اظهرته بروتينات حليب الابل ضد الاجزاء الخلوية باستعمال مجهر الفلورسنت Flourescence microscope حدوث انخفاض في عدد الخلايا السرطانية المستخدمة من نوع Human Lung Adenocarcinoma(A549) مع حدوث تغيرات مظهرية في شكل وحجم الميتوكوندريا والانوية مع حدوث تنشيط ملحوظ في Cytochrome C بفعل المعاملة ببروتين الكازائين والشرش في حليب الابل العراقية وهذا ما يشير السمية الموجودة في هذه البروتينات تجاه الخلايا السرطانية عند مقارنتها مع الخلايا غير المعاملة وخلايا السيطرة الموجبة. اظهرت نتائج معاملة خلايا (A549) بتراكيز من بروتين الكازائين فعالية تباينت حسب التركيز المستخدم وتبعاً للجزء الذي تاثر بهذه الفعالية فنجد ان تركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل من بروتين الكازائين قد اعطى فعالية تجاه المادة النووية الكلية Total Nuclear Intensity ويليها التركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ثم التركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل ثم التركيز ٥٠ مايكروغرام/مل ثم التركيز ١٠٠ مايكروغرام/مل. في حين ان التركيز ١٠٠ مايكروغرام/مل من الكازائين اعطى اعلى فعالية تجاه نفاذية غشاء الخلية Cell Membrane Permeability ثم التركيز(٢٥، ١٢.٥، ٦.٢٥، ٥٠) مايكروغرام/مل. في حين ان التركيز ١٠٠ مايكروغرام/مل من الكازائين اعطى اعلى فعالية تجاه Cytochrom C ثم التراكيز (١٥٠، ٢٥، ١٢.٥، ٦.٢٥) مايكروغرام/مل، والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل من الكازائين اعطى اعلى فعالية تجاه غشاء الميتوكوندريا Mitochondrial Membrane Potential ثم التراكيز (١٢.٥، ٢٥، ٥٠، ١٠٠) مايكروغرام/مل. اظهرت نتائج معاملة الخلايا (A459) بتراكيز من بروتين الشرش فعالية تباينت تبعا للتركيز والجزء الذي تاثر بهذه الفعالية فنجد ان تركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل من بروتين الكازائين قد اعطى فعالية تجاه المادة النووية الكلية Total Nuclear Intensity ثم التراكيز (١٢.٥، ٢٥، ١٠٠، ٥٠) مايكروغرام/مل. والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل اعطى اعلى فعالية تجاه نفاذية الغشاء الخلوي Cell Membrane Permeability ثم التركيز(١٢.٥، ٢٥، ١٠٠، ٥٠) مايكروغرام/مل. والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل اعطى اعلى فعالية تجاه Cytochrom C ثم التراكيز (١٢.٥، ٥٠، ١٠٠، ٢٥) مايكروغرام/مل، والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل اعطى اعلى فعالية تجاه غشاء الميتوكوندريا Mitochondrial Membrane Potential ثم التراكيز (١٠٠، ٥٠، ١٢.٥، ٦.٢٥) مايكروغرام/مل. تم تحديد نسبة بقاء الخلايا حية بطريقة اختبار MTT اذ تم استخدام اربعة انواع من الخلايا السرطانية المدروسة لاظهار التاثير السام لبروتينات الكازائين والشرش اتجاهها. كان التاثير متبايناً تبعاً لنوع الخلايا السرطانية المستخدمة والتراكيز المستخدمة، اظهرت النتائج ان التركيز (2.0) مايكروغرام/مل امتلك اعلى فعالية تجاه الخلايا السرطانية الاربعة بينما اعطى التركيز (0.5) مايكروغرام/مل اقل فعالية تجاه الخلايا السرطانية وكانت نسبة بقاء الخلايا الحية الاعلى عنده. وكانت العلاقة عكسية ما بين التراكيز ونسبة بقاء الخلايا المستخدمة. اظهرت الدراسة الحالية ان السمية الخلوية لبروتينات الشرش المعزول من حليب الابل العراقية تجاه الخلايا الاربعة المدروسة وجود تاثير قاتل للخلايا السرطانية المستخدمة وكذلك اعتماداً على التراكيز المستخدمة حيث نلاحظ ان نسبة بقاء الخلايا الحية كانت الاعلى عند التركيز (0.5) مايكروغرام/مل وكانت الفعالية الاعلى تجاه هذه الخلايا الحية عند التركيز (2.0) مايكروغرام/مل أي ان العلاقة كانت عكسية ما بين التركيز ونسبة بقاء الخلايا الحية.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) **مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة** Open Access
2015 ,(9), (2) :14-31

المقدمة:

يواجه الطب العديد من المشكلات ولعل السرطان واحدة من ابرزها الذي لايزال يشكل تحديا كبيرا للطب المعاصر(١,٢)، ويعد مرض السرطان واحداً من اهم واخطر الامراض التي تنتهي بالموت ويعد ثاني مسبب للموت بعد امراض القلب Coronary Heart Disease (CHD) في العالم (3)،على الرغم من التقدم في فهم طبيعة السرطان، وضعت العديد من الطرق العلاجية المضادة للسرطان التي تعتمد على الجراحة، والعلاج الكيميائي، العلاج الإشعاعي، العلاج الهرموني، ومؤخرا المناعي (٤) وعلى الرغم من فعالية العلاج الكيميائي، أظهرت الأدوية الموجودة آثار جانبية خطيرة على الانسان ومن هذه العلاجات، باكليتاكسيل، دوكسوروبيسين (٥,٦,٧) و سيكلوفوسفاميد (٨). وقد أجريت العديد من الدراسات للحد من الآثار الجانبية بعد العلاج الكيميائي باستخدام طرائق مختلفة من هذه الطرائق هو السعي للحصول عقاقير جديدةمع آثار جانبية أقل (7,9,10). ومع ذلك، وكلها لا تزال بعيدة كل البعد عن العلاج المثالي، بحيث تقتل بشكل انتقائي الخلايا الخبيثة وتجنب الأنسجة السليمة العادية (١١,١٢).

أن نسبة امراض السرطان في أمريكا تصل إلى ١:٤ بمعنى أنه مقابل كل أربعة أشخاص معافين يوجد شخص واحد مريض، وهي نسبة لا شك عالية في دولة متقدمة مثل أمريكا(13).

واكثر الوفيات التي حدثت في الاعوام الاخيرة سجلت في الدول الفقيرة ذات الدخل المتوسط والمنخفض وان انتشار مرض السرطان مستمر بالازدياد ليصل الى تسعة ملايين شخص سنوياً بحلول عام ٢٠١٥ و ١٢ مليون سنوياً عام ٢٠٣٠، وتشير الاحصائيات المحلية الى ان مرض السرطان يأتي بالمرتبة الاولى في العراق في السنوات العشر الاخيرة بسبب ظروف الحرب التدميرية التي استخدمت خلالها انواع الاسلحة المسببة للسرطان (١٤).

لقد اثبتت الدراسات العلمية الحديثة ان حليب الابل العربية (ذات السنام الواحد) يمتلك اجساما مضادة تدعى الاجسام المضادة النانوية (Nano antibody) واختصاراً (Nanobodies) لها القدرة العالية على مهاجمة المسببات المرضية المختلفة وتركزت البحوث الحديثة على امكانية استخدام هذه الاجسام المضادة النانوية في تثبيط وقتل الخلايا السرطانية كخطوة جديدة لاستعمال المواد الطبيعية لمضادات السرطانات المختلفة التي تصيب البشر (15).

وتتركب هذه الاجسام الصغيرة من سلاسل قصيره من الاحماض الامينية وشكلها على حرف (V) وسماها العلماء الاجسام المضادة الناقصة، ولا توجد هذه الا في حليب الابل العربية، زيادة على وجود الاجسام المضادة الاخرى الموجودة في الانسان وبقية الحيوانات الثدية فيها ايضا والتي على شكل حرف(Y)، وأن حجم هذه الاجسام المضادة هو عشر حجم المضادات العادية واكثر رشاقة من الناحية الكيميائية وقادره على ان تلتحم بأهدافها وتدمرها بنفس قدرة الاضداد العادية، وتمر بسهوله عبر الاغشية الخلوية وتصل لكل خلايا الجسم، وتمتاز هذه الاجسام النانوية بأنها اكثر ثباتا في مقاومة درجة الحرارة ولتغير الاس الهيدروجيني تغيرا متطرفا،وتحتفظ بفاعليتها اثناء مرورها بالمعدة والامعاء بعكس الاجسام المضادة العادية التي تتلف بالتغيرات الحرارية وبأنزيمات الجهاز الهضمي، مما يعزز من آفاق ظهور حبات دواء تحتوي اجساماً نانوية

* Corresponding author at: University of Anbar - College of Science .E-mail address :

لعلاج مرض سرطان القولون. وقد تركزت الابحاث العلمية على هذه الاجسام المضادة في علاج الاورام على حيوانات التجارب وعلى الانسان وأثبتت فاعليتها في القضاء على الاورام السرطانية إذ تلتصق بكفاءة عالية بجوار الخلية السرطانية وتدمرها ونجحت بعض الشركات المهتمة الخاصة بأبحاث التكنولوجيا الحيوية الخاصة في بريطانيا وأمريكا في انتاج دواء على هيئة اقراص مكون من مضادات شبيهة بالموجودة في حليب الابل لعلاج السرطان والامراض المزمنة العديدة والتهابات البكتيرية والفيروسية(١٦).

ويعد حليب الابل من المواد الطبيعية التي تمتلك العديد من العناصر ذات الفعالية المضادة للخلايا الحية (17)، و يمتاز بعدم تأثيره في الخلايا الطبيعية داخل الجسم (18)، وقد أشارت العديد من التقارير الأخيرة أن العديد من الأدوية المضادة للسرطان تعمل من خلال استحثاث موت الخلايا المبرمج لمنع الورم ,(19)، ويستخدم حليب الابل في دراسة التأثيرات الوقائية ضد التعرض للمواد الكيميائية (20). يحتوي الحليب بشكل عام على العديد من العناصر الوقائية ضد السرطان وأهمها اللاكتوفيرين، أذ أثبتت الدراسات دوره المهم في الحد من بعض أنواع السرطانات في الفئران ومنها سرطان القولون(٢١,٢٢)

يحتوي حليب الابل على بروتينات تمتلك وظائف عديدة من هذه الوظائف انها مضادة للاكسدة (antioxidant)(٢٣)، ومضاد للتسرطن(Anticancer) (24,25)، وهذا ما اوضحه (٢٦) في دراسته على فعالية بروتينات حليب الابل ضد الخلايا السرطانية بسبب احتواء هذه البروتينات على مواد مضادة للاكسدة والتي تعمل على ازالة التأثير الضار للجذور الحرة (Free Radicalis) وبالتالي منع حدوث الورم السرطاني، او ازدياد الخلايا السرطانية، ووجود عناصر المغنيسيوم والزنك وفيتامين C وB2 في حليب الابل والتي تعمل على تحفيز الانزيمات المضادة للاكسدة داخل الجسم يقلل من الاصابة بالسرطان لمستهلك حليب الابل، كما ان احتواء حليب الابل على تراكيز عالية من فيتامين C وهو مضاد قوي للاكسدة ضد الجذور الحرة المسببة للسرطان (27)، وكذلك احتواءه على تراكيز عالية من مادة Antigentoxic والتي تعمل Anticytotoxic تقلل من الاصابة بالاورام السرطانية (28)، واشارت الدراسات التي اجريت على حليب الابل الى ان تاثير Anticytotoxic وantigenotoxic يرجع الى وجود بروتينات الكازائين والزنك ولاكتوفرتين وفيتامين(29,30,31,32)C. وأن هذه البروتينات منعت نمو الخلايا السرطانية لكل من (المخ، القولون، الكبد، عنق الرحم) وذلك في المزارع الخلوية، وأثبتت ايضا منعها لنمو خلايا سرطان الرئة المأخوذة من الإنسان وخلايا سرطان الدم المأخوذة من الفأر في المزارع الخلوية، كما حاربت انتشار السرطان في حيوانات التجارب (الفئران) المسرطنة بسرطان الدم، وعند استحداث نموذجا جراحيا وهي عباره عن حيوانات تجارب مسرطنة زرعت فيها أجزاء صغيرة من أنسجة سرطانية بشرية تم استئصالها من مريض مصاب بسرطان الجلد وذلك لأن التجارب التي تجرى داخل جسم الكائن الحي In vivo تعزز وتؤكد التأثير العلاجي لحليب الابل وأجريت دراسة الموت المبرمج للخلايا السرطانية (Apoptosis) في المزارع الخلوية باستخدام اختبار الـ MTT، وكل تلك التجارب أثبتت فعالية حليب الابل في محاربة السرطان(33) وأكدت البحوث فعاليته في منع حدوث السرطانات المختلفة في الحيوانات المختبرية والإنسان بسبب قدرته على منع تكوين مركبات "النتروسامينات" في الجسم المسؤولة على إحداث السرطانات. كما أنه يعتبر حليب الابل مادة مضادة للأكسدة، الأمر الذي يساعد في حماية أنسجة الجسم

المختلفة من التلف، ومما يقلل إصابة الإنسان باالاورام السرطانية المختلفة(٣٤). واشارت الدراسات الى قدرة حليب الابل على تثبيط الجينات المحفزة للسرطان على البروتين مستوى والحامض النووي الرايبوزي (RNA)،وكذلك مقدرته على تنشيط احد الجينات المضادة للسرطان في خلايا الكبد، وخلايا سرطان الثدي الانسانية المزروعة اظهرت ايضا قدرة حليب الابل على احداث الموت المبرمج للخلايا السرطانية عن طريق تحفيز فعالية معيار (كاسبيس٣) وزيادة التعبير الجيني لمستقبلات الموت(٣٥).

ورغم قلة الدراسات التي اجريت حول استخدام بروتين الكازائين في حليب الابل كمثبط للخلايا السرطانية في العقود الماضية (36,37)، تزايد اهتمام الباحثين في الوقت الحاضر بدراسة اهمية استخدام بروتينات الكازائين بشكل منفرد للاغراض الطبية إذ تم استخدامه كعلاج للكثير من الامراض بصوره عامه وقد استخدم في تثبيط انواع الخلايا السرطانية (38)،واشارت الابحاث الى انه يعمل على تثبيط نمو العديد من انواع الخلايا السرطانية وتنظيم الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) للخلايا المختلفة (39)، وتقلل بروتينات الكازائين من نمو الخلايا السرطانية عامه بمقدار خمسة مرات عن بقية بروتينات الحليب كما انه يثبط ظاهرة الانبثات Metastusis في سرطان الثدي،وبمقدار عشر مرات في الخلايا الجذعية السرطانية (40) وذكرت الدراسات ان لبروتينات الكازائين الموجودة في حليب الابل العراقية فعالية في تثبيط اربعة انواع من الخلايا السرطانية خارج الجسم (In vivo) وهي A549)، MCF7، PC3، HepG2) (٤١,٤٢) ووجد ان لهذا البروتين فعالية تعزيزية للمركب Cisplatin المستخدم في علاج امراض السرطان(٢٨).

استهدف البحث تحديد الفعالية المضادة للخلايا السرطانية المختلفة التي تمتلكها بروتينات حليب الابل العراقية بعد تنقيتها.

طرائق العمل:

تم جمع نماذج الحليب من ٥٠ ناقة مرضعة من منطقة الرطبة – محافظة الانبار – غرب العراق بواقع ٢ لتر/ ناقة للمدة من ٢٠١٣/٤/١ ولغاية ٢٠١٣/٦/١ وتم نقل الحليب في حاويات معقمة تحت ظروف مبردة لإجراء الاختبارات اللاحقة. ونفذ جميع خطوات في جامعة العلوم الماليزية خلال المدة منر ٢٠١٣/٦/١ لغاية ٢٠١٣/٩/١.

دراسة القدرة التثبيطية لبروتينات الحليب ضد الخلايا السرطانية (MTT) :

تم استعمال الطقم المجهز من شركة Sigm–Aldrich المرقم Stock No. Tox–1 وحسب(43).

دراسة المحتوى الدقيق للخلايا السرطانية (HSC) :

استخدمت العدة المجهزة من شركة Thermo Scientific الامريكية لاجراء اختبار HSC والخاصة باختبار دراسة المحتوى الدقيق للخلايا (المعاملة بالمواد الطبيعية او الكيميائية) وتحديد تاثير السمية تجاه الخلايا قيد الدراسة (Collomics Mutiparameter Cytotoxicity). (٤٤).

النتائج والمناقشة:

تحديد التركيز المثبط (نصف الخلايا المدروسة IC50) :

يوضح الجدول رقم١ نتائج التثبيط القاتل للبروتينات المعزولة من حليب الابل العراقية لنصف الخلايا تجاه الخلايا السرطانية الأربعة Human Brest cancer cells(MCF7)، Human prostate cancer cells(PC3)، Human lung adenocarcinoma epithelial cells

(A549)،(Hep.G2) Liver hepatocellular carcinoma cells الخاضعة للدراسة اذ بلغ تركيز المثبط لبروتينات الكازائين تجاه خلايا MCF7 (63.24)، PC3 (56.17)، A549 (68.43)، Hepg2 (59.24)، بينما بلغ تركيز المثبط لبروتينات الشرش تجاه الخلايا الأربعة MCF7 (29.54)، PC3 (31.64)، A549 (28.12) Hepg2، (36.90).

جدول رقم (١) : التركيز المثبط القاتل لنصف الخلايا السرطانية المدروسة (Hep.G2،A549 ،PC3،MCF7).

المادة	Hep.G2	A549	PC3	MCF7
الكازائين	59.24	68.43	56.17	63.24
الشرش	36.90	28.12	31.64	29.54

اختبار المحتوى الخلوي الدقيق (High Screening Content HSC):

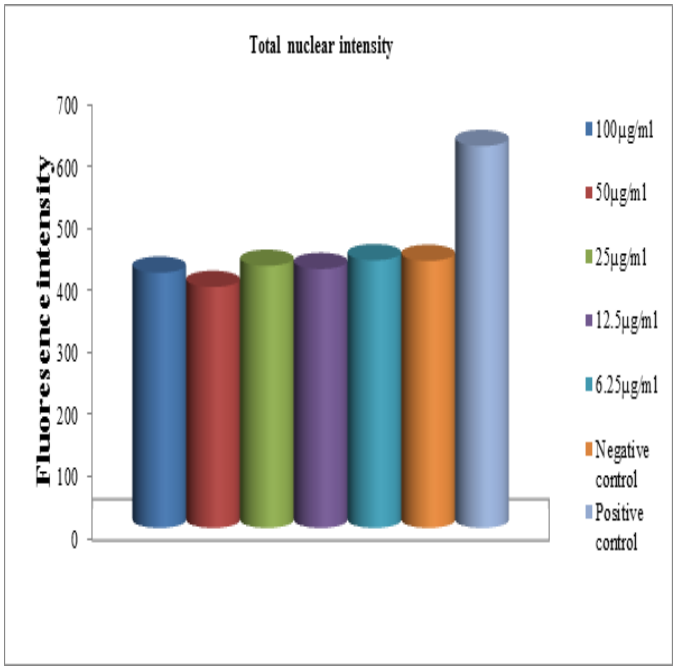
توضح الصورة رقم(١) نتائج اختبار المحتوى الخلوي الدقيق (High Screening Content HSC) الذي تظهره بروتينات حليب الابل العراقية الكازائين والشرش ضد الاجزاء الخلوية باستعمال مجهر الفلورسنت (Fluorescence Microscope) وهي من التقنيات الحديثة المستعملة في بحوث علوم الحياة والعلوم الصيدلانية وتستعمل لغرض تحديد القدرة التثبيطية والعلاجية لجزيئات حيوية كالبروتينات والاحماض النووية والببتيدات والجزيئات الحيوية الاخرى من خلال تحديد قدرتها على احداث التبدلات المظهرية في الخلايا المدروسة(45) وتشمل التبدلات المظهرية زيادة او نقص في انتاج بروتين معين او ان يكون تغيرا في مظهر وتكوين عضيات خلوية معينة نتيجة معاملتها بمادة حيوية مقترحة (٤٦).

يتضح من الصورة رقم (١) حدوث انخفاض في عدد الخلايا السرطانية المستخدمة من نوع Human Lung Adenocarcinoma (A549)، مع حدوث تغيرات مظهرية في شكل وحجوم المايتوكوندريا والانوية مع حدوث تنشيط ملحوظ في Cytochrome C بفعل المعاملة ببروتين كازائين حليب الابل العراقية وهذا يشير بوضوح الى امتلاك كازائين حليب الابل العراقية فعالية سميه مضادة لخلايا السرطانية تبدو واضحة من ملاحظة الاختلافات الي شوهدت عند مقارنتها مع الخلايا غير المعاملة وخلايا السيطرة الموجبة بما يؤكد أمكانية استخدام بروتين الكازائين الموجودة في حليب الابل لتثبيط الخلايا السرطانية وهذا ما تم تأكيده في التجارب اللاحقة لهذه الدراسة. وتوضح الاشكال (٤،٣،٢،١)السمية الخلوية لبروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية ضد الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma (A549)، باستعمال تقنية (High Screening Content HSC ويظهر من الشكل ان الفعالية التي اظهرها بروتين الكازائين تباينت تبعا للتركيز المستخدم وكذلك تبعا للجزء الذي تأثر بهذه الفعالية فنجد ان تركيز 6.25 مايكروغرام /مل من بروتين الكازائين اعطى اعلى تأثير تجاه المادة النووية الكلية (Total nuclear intensity) والتراكيز(25، 12.5، 100، 50) مايكروغرام/مل اعطت فعالية أتجاه المادة النووية حسب ترتيبها. في حين ان تركيز 100مايكروغرام/مل كازائين اعطى اعلى فعالية أتجاه نفاذية الغشاء الخلوي (cell membrane permeability) والتراكيز(25، 12.5، 6.25، 50) مايكروغرام /مل اعطت فعالية أتجاه نفاذية الغشاء الخلوي حسب ترتيبها،وتركيز 100 مايكروغرام/مل كازائين اعطى اعلى فعالية تجاه cytochrome (C) والتراكيز(50، 25، 12.5، 6.25)

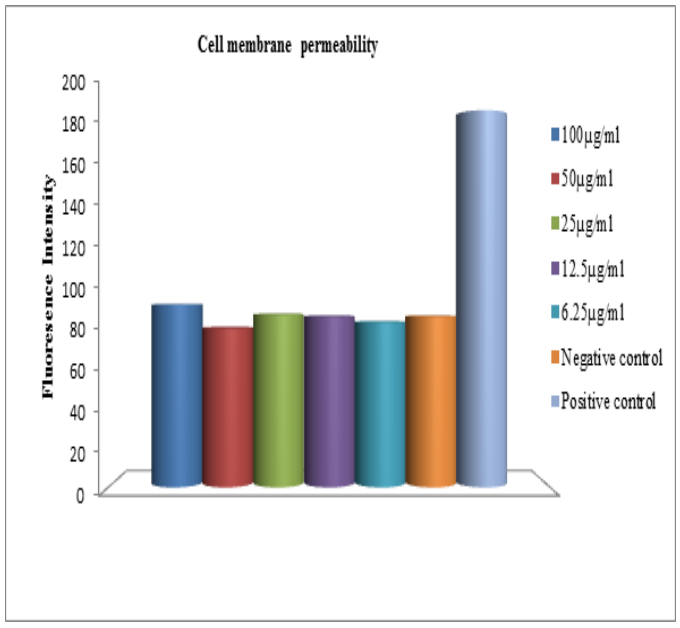
P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (2) :14-31

مايكروغرام/مل اعطت فعالية أتجاه cytochrome (C) حسب ترتيبها، والتركيز 6.25 مايكروغرام/مل كازائين اعطى اعلى فعالية ضد غشاء المايتوكوندريا (mitochondrial membrane potential). وكانت التراكيز (12.5، 25 ,50 ,100) مايكروغرام/مل اعطت فعالية ضد غشاء المايتوكوندريا (mitochondrial membrane potential) وحسب ترتيبها.

بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٤١٠ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٣٨٠ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ٤٢٠ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٤١٥ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٤٣٠.



شكل١: السمية الخلوية لبروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية ضدTotal nuclear intensity الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.



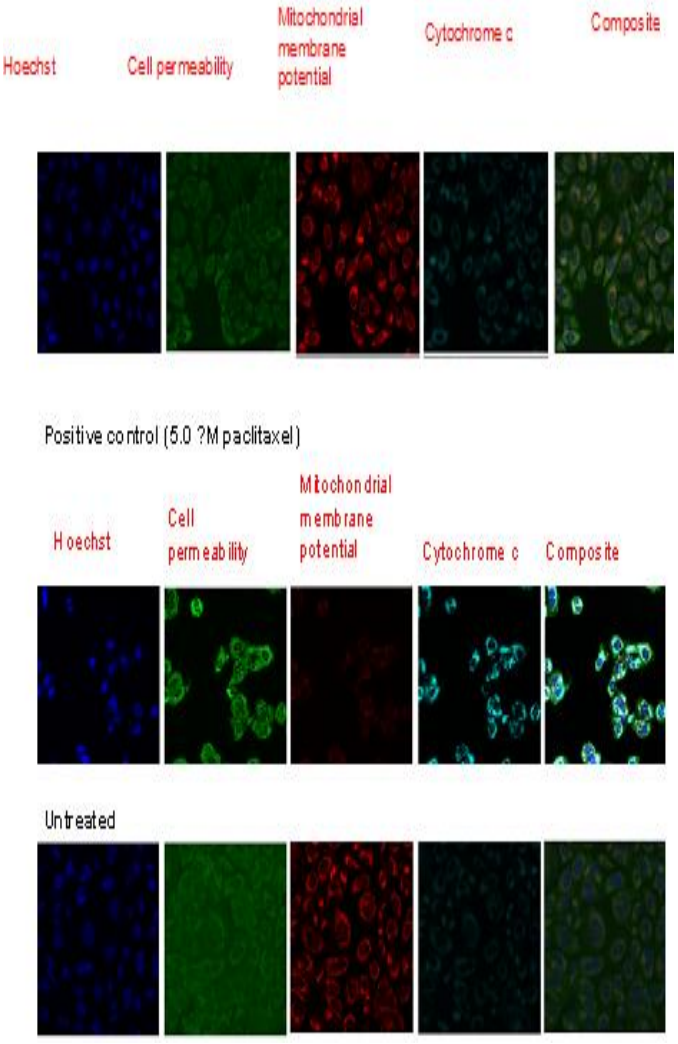
شكل٢: السمية الخلوية لبروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية ضد cell membrane permeability في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content

بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٩٣ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٨١ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ٨٧ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٨٦ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٨٢.٥.

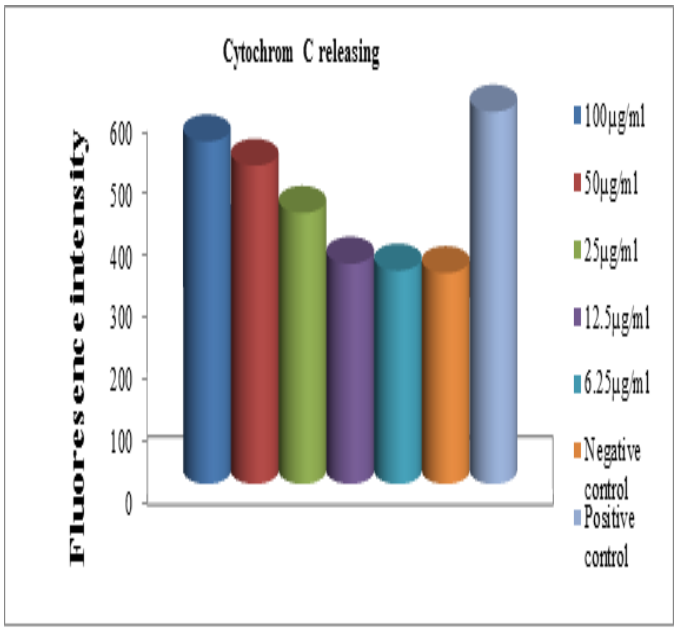
بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٥٥٠ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٥٠٧ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ٤٢٨ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٣٥٧ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٣٤٦.

بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٢١٣ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٢١٠ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ١٦٩ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ١٣١ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ١١٢.

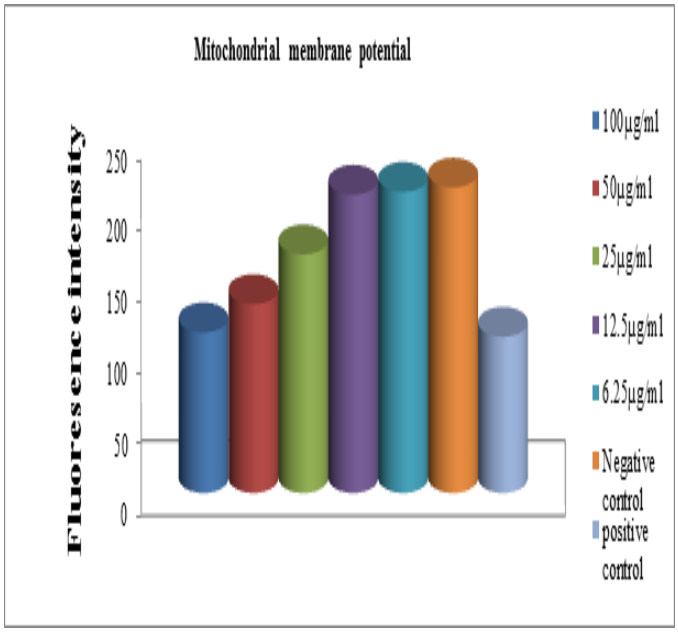
يتضح من الصورة رقم (١) و(٢) حدوث انخفاض في عدد الخلايا السرطانية المستخدمة من نوع Human Lung Adenocarcinoma (A549)، مع حدوث تغيرات مظهرية في شكل وحجوم المايتوكوندريا والانوية مع حدوث تنشيط ملحوظ في Cytochrome C بفعل المعاملة ببروتين الشرش في حليب الابل العراقية.



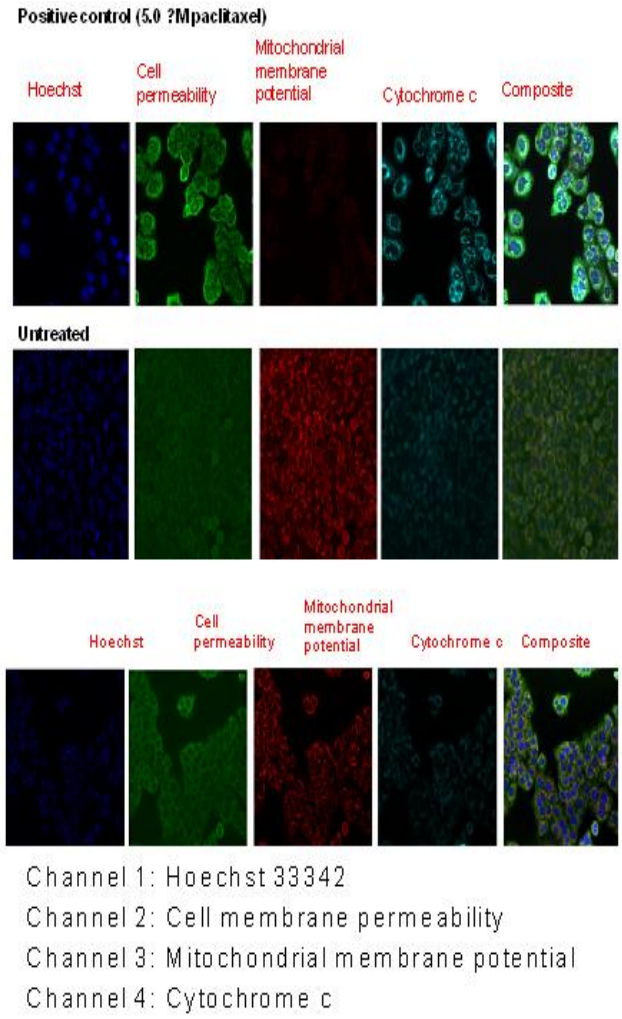
صورة١: نتائج اختبار High Screening Content لخلايا Human Lung Adenocarcinoma A549 المعاملة ببروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية باستخدام المجهر الفلورسنت (Flourescent Microscope)



شكل٣: السمية الخلوية لبروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية ضد cytochrome C في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.

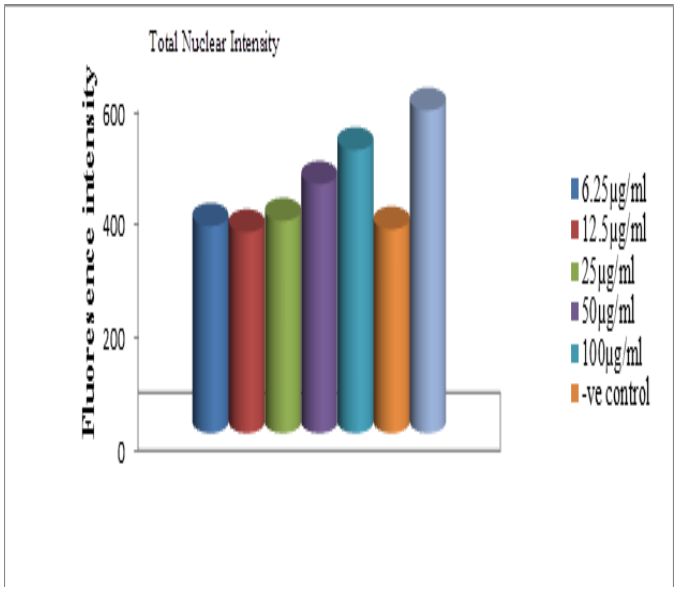


شكل٤:السمية الخلوية لبروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية ضدmitochondrial membrane potential في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.



صورة٢: نتائج اختبار High Screening Content لخلايا Human Lung Adenocarcinoma A549 المعاملة ببروتين الشرش المعزول من حليب الابل العراقية باستخدام المجهر الفلوروسيني (Flourescent) Microscope

وتوضح الاشكال(٥، ٦،، ٧، ٨) السمية الخلوية لبروتينات الشرش المعزول من حليب الابل العراقية ضد الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma (A549)، باستعمال تقنية High Screening Content HSC ويظهر من الشكل ان الفعالية المضادة التي اظهرها بروتين الشرش تباينت تبعا للتركيز المستخدم وكذلك تبعا للجزء الذي تأثر بهذه الفعالية فنجد ان تركيز 6.25 مايكروغرام /مل من بروتين الشرش اعطى اعلى تأثير تجاه المادة النووية Total nuclear intensity والتراكيز(12.5، 25، 100، 50) مايكروغرام /مل اعطت فعالية أتجاه المادة النووية حسب ترتيبها. في حين ان تركيز6.25 مايكروغرام /مل شرش اعطى اعلى فعالية أتجاه نفاذية الغشاء الخلوي (cell membrane permeability) والتراكيز(25,12.5، 100، 50) مايكروغرام /مل اعطت فعاليه أتجاه نفاذية الغشاء الخلوي حسب ترتيبها، وتركيز 6.25 مايكروغرام/مل شرش اعطى اعلى فعالية تجاه cytochrome C والتراكيز(25،100 ,50,12.5) اعطت فعالية أتجاه cytochrome C حسب ترتيبها، والتركيز25 مايكروغرام/مل شرش اعطى اعلى فعالية ضد غشاء المايتوكوندريا mitochondrial (membrane potential). وكانت التراكيز(12.5،6.25 ,50,100) مايكروغرام /مل اعطت فعالية ضد غشاء المايتوكوندريا (mitochondrial membrane potential) وحسب ترتيبها.



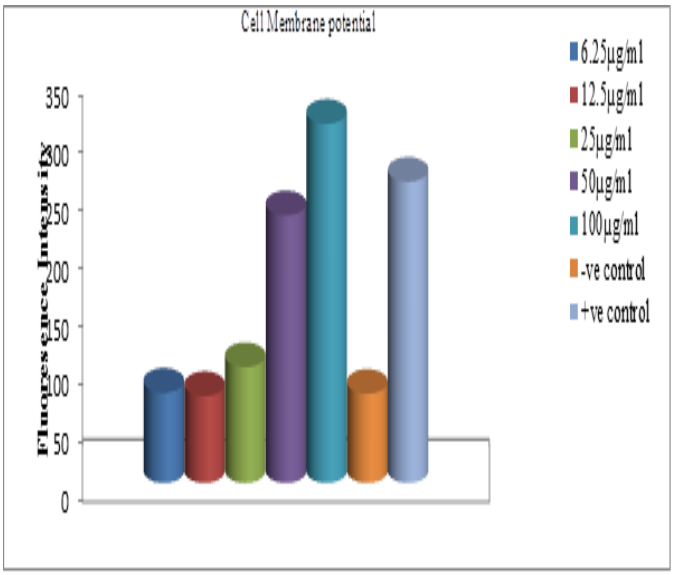
شكل٥: الفعالية الخلوية لبروتين الشرش المعزول من حليب الابل العراقية ضد Total nuclear intensity في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (2) :14-31

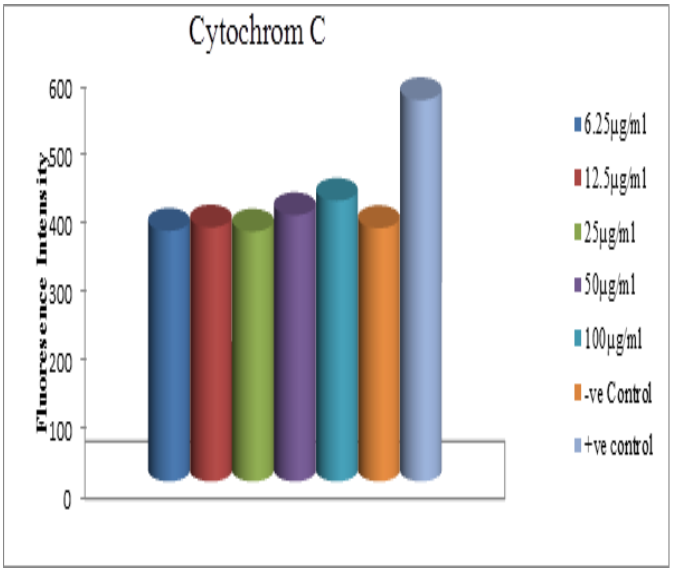
بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٣٩٢ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٣٨٤ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ٤٠٤ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٤٥٤ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٥٤٠.

بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٩٣ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٧٧ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ١٢٦ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٢٥٢ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٣٣٧. بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٤٠٣ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٤٠٧ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ٣٩٧ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٤١٩ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٤٢٩.

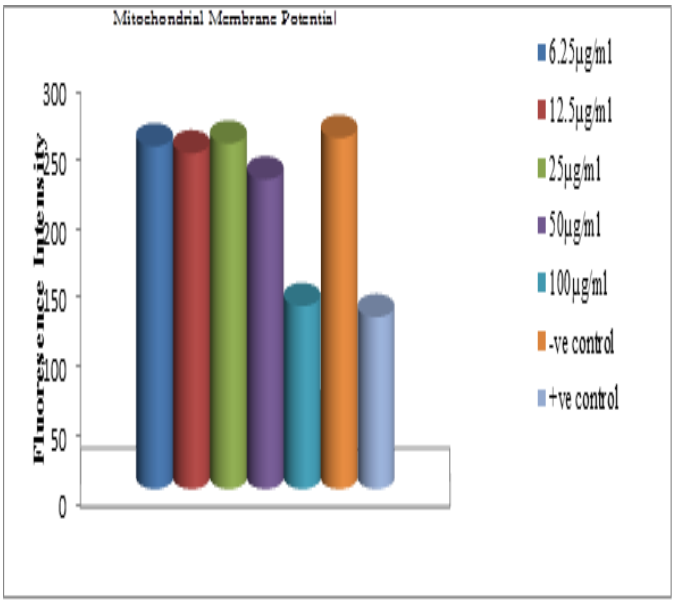
بلغت السمية الخلوية بدلالة الشدة الضوئية الفلورسينية عند التركيز ١٠٠مايكروغرام/مل بمعدل ٢٦١ والتركيز ٥٠ مايكروغرام/مل بمعدل ٢٥٥ والتركيز ٢٥ مايكروغرام/مل ٢٦٤ والتركيز ١٢.٥ مايكروغرام/مل بمعدل ٢٣١ والتركيز ٦.٢٥ مايكروغرام/مل بمعدل ١٣١.



شكل٦: الفعالية الخلوية لبروتين الشرش المعزول من حليب الابل العراقية ضد cell membrane permeability في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.



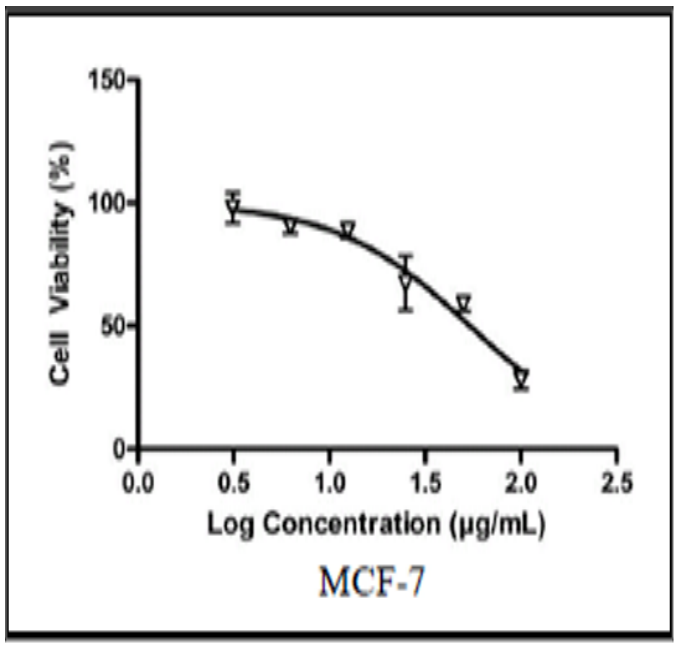
شكل٧: الفعالية الخلوية لبروتين الشرش المعزول من حليب الابل العراقية ضد cytochrome C في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.



شكل٨: الفعالية الخلوية لبروتين الشرش المعزول من حليب الابل العراقية ضد mitochondrial membrane potential في الخلايا السرطانية من نوع Human Lung Adenocarcinoma A549 باستعمال تقنية High Screening Content.

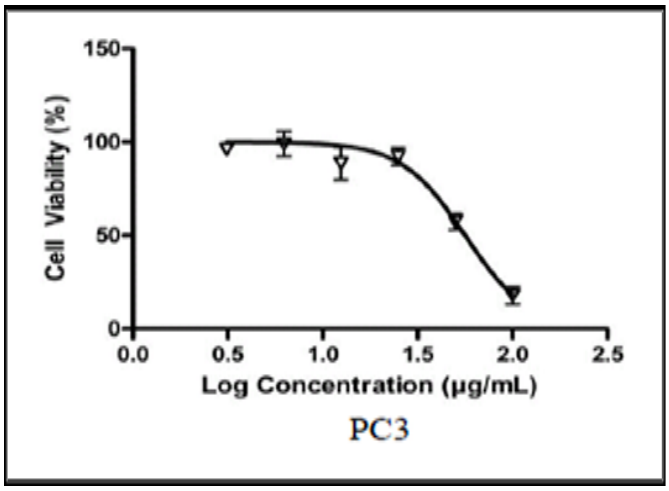
ومن اجل تعميق الدراسة في التأثير السمي للخلايا الذي يمتلكه بروتين الكازائين المعزول من حليب الابل العراقية، تم اجراء اختبار MTT الذي يعد طريقة طيفية لقياس فعالية الانزيمات الخلوية القادرة على اختزال صبغة Tetrazolium وتكوين صبغة Formazan التي تتناسب شدتها مع الفعالية الانزيمية التي تمتلكها الخلايا وبالتالي تحديد عدد الخلايا الحية (نسبة البقاء Viability) بعد المعاملة فقد تم استخدام اربعة انواع من الخلايا السرطانية هي لإظهار التأثير السام لخلايا السرطان الأتية:Human Lung Adenocarcinom(A549) و Human Hepatoma (HepG2) و Prostate cancer (PC3) و Breast Cancer (MCF7)الذي يمتلكه بروتين كازائين الحليب المعزول من الابل العراقية ويتضح من الاشكال (٩، ١٠، ١١، ١٢) وجود تأثير قاتل للخلايا بفعل المعاملة ببروتين كازائين حليب الابل العراقية بتركيزات مختلفة وكان التأثير متباينا تبعا لنوع الخلايا السرطانية المستخدمة وكذلك اعتمادا على التركيزات المستخدمة ونجد ان نسبة بقاء الخلايا السرطانية قيد الدراسة انخفضت مع زيادة تركيز بروتين الكازائين اي وجود علاقة تناسب عكسية بين التركيز ونسبة بقاء الخلايا السرطانية.

تفاوتت نسبة بقاء خلايا MCF-7 تبعا لتركيز بروتين الكازائيين المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٩٦% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٧٨% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٥٣% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٣٧%.



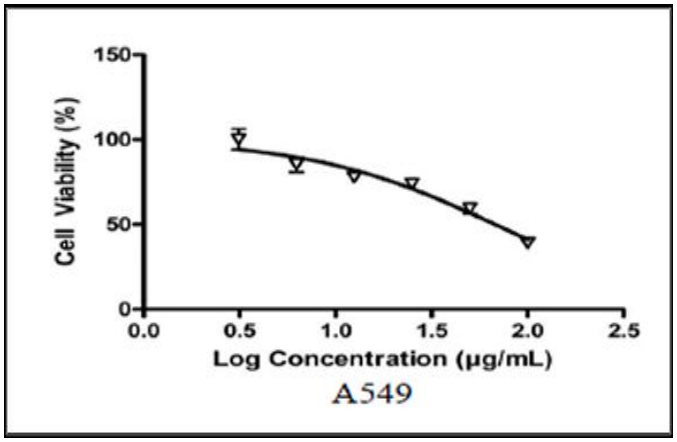
الشكل ٩: نسبة بقاء الخلايا السرطانية، MCF7 (خارج الجسم الحي) المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الكازائين المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (2) :14-31



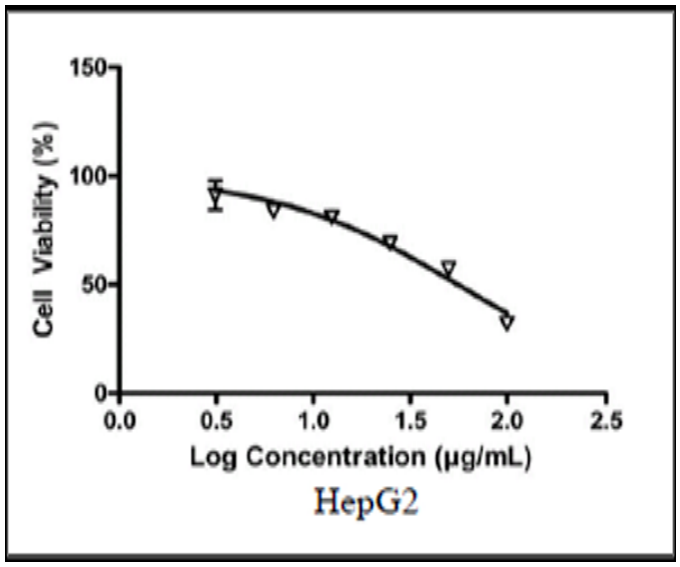
الشكل١٠: نسبة بقاء الخلايا السرطانية PC3 , (خارج الجسم الحي) المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الكازائين المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.

تفاوتت نسبة بقاء خلايا PC3 تبعا لتركيز بروتين الكازائين المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٩٧% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٩٥% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٧٩% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٢٠%. تفاوتت نسبة بقاء خلايا A549 تبعا لتركيز بروتين الكازائين المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٨١% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٦٥% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٧٤% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٣٩%.



الشكل١١: نسبة بقاء الخلايا السرطانية A549 (خارج الجسم الحي)

المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الكازائين المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.

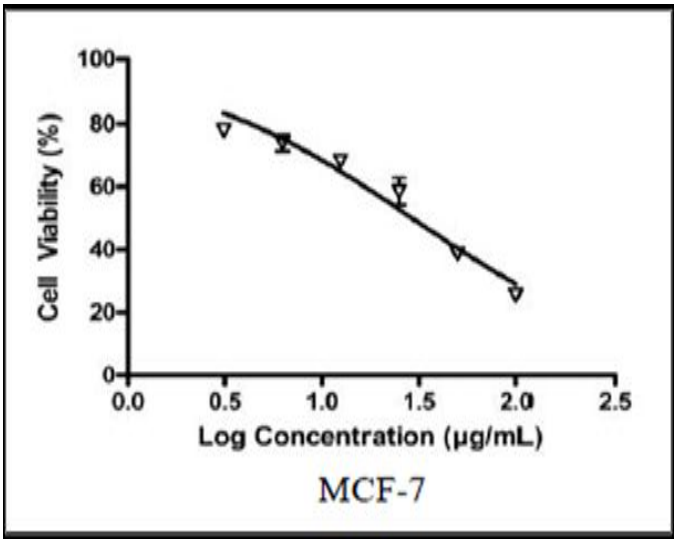


الشكل١٢: نسبة بقاء الخلايا السرطانية HepG2(خارج الجسم الحي) المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الكازائين المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.

تفاوتت نسبة بقاء خلايا HepG2 تبعا لتركيز بروتين الكازائين المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٩٢% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٩٦% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٦٢% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٣٨%.

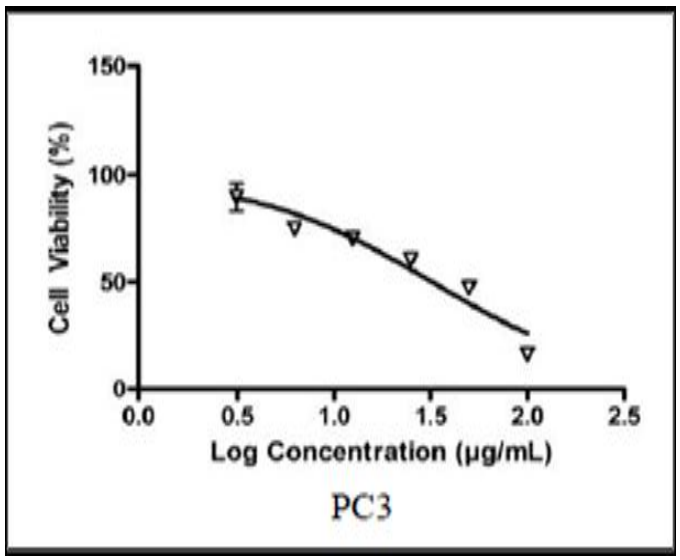
ومن اجل تعميق الدراسة في التأثير السمي للخلايا الذي يمتلكه بروتين الشرش المعزول من حليب الابل العراقية، تم اجراء اختبار MTT تجاه نفس الخلايا السرطانية المستخدمة مع بروتين الكازائين من اجل توضيح مقارنة بين السمية الخلوية لبروتينات الشرش مع بروتين الكازائين كلا على حده تجاه الخلايا السرطانية المدروسة. ويتضح من الاشكال (١٣، ١٤، ١٥، ١٦) وجود تأثير قاتل للخلايا بفعل المعاملة ببروتين شرش حليب الابل العراقية بتركيزات مختلفة وكان التأثير متباينا تبعا لنوع الخلايا السرطانية المستخدمة وكذلك اعتمادا على التركيزات المستخدمة

ونجد ان نسبة بقاء الخلايا السرطانية قيد الدراسة انخفضت مع زيادة تركيز بروتين الشرش اي وجود علاقة تناسب عكسية بين التركيز ونسبة بقاء الخلايا السرطانية.

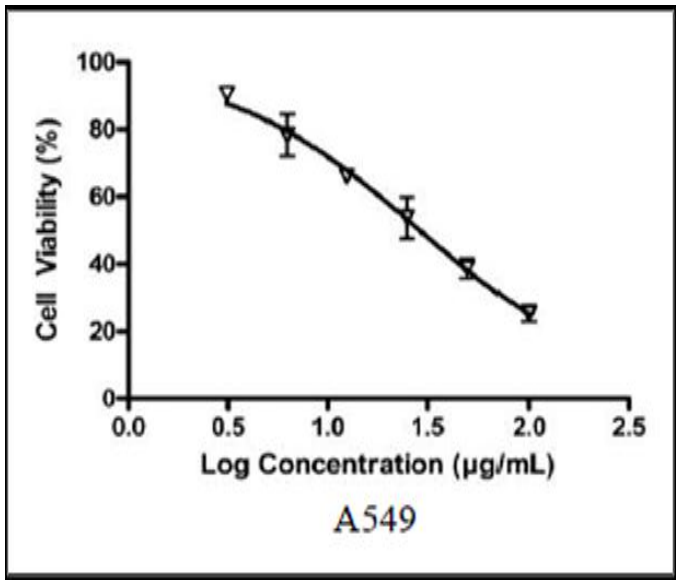


الشكل١٣: نسبة بقاء الخلايا السرطانية، MCF7 (خارج الجسم الحي) المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الشرش المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.

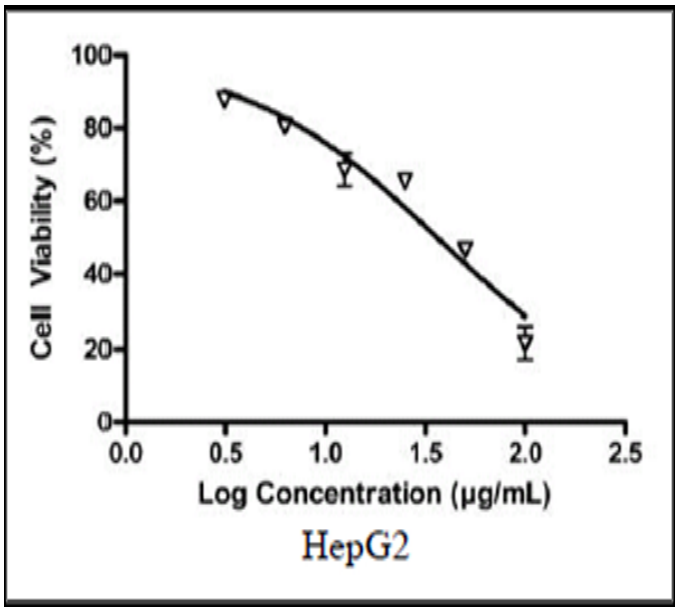
تفاوتت نسبة بقاء خلايا MCF-7 تبعا لتركيز بروتين الشرش المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٨٤% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٦٩% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٥١% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٣١%. تفاوتت نسبة بقاء خلايا PC3 تبعا لتركيز بروتين الشرش المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٨٨% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٧٣% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٥٣% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٢٢%. تفاوتت نسبة بقاء خلايا A549 تبعا لتركيز بروتين الشرش المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٨٨% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٧٠% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٤٤% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٢٢% تفاوتت نسبة بقاء خلايا HepG2 تبعا لتركيز بروتين الشرش المستخدم وبلغت عند التركيز ٠.٥ نسبة بقاء ٨٩% وعند التركيز ١.٠ نسبة بقاء ٧٥% وعند التركيز ١.٥ نسبة بقاء ٥٦% وعند التركيز ٢.٠ نسبة بقاء ٢٨%.



الشكل١٤: نسبة بقاء الخلايا السرطانية PC3 , (خارج الجسم الحي) المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الشرش المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.



الشكل١٥: نسبة بقاء الخلايا السرطانية A549 (خارج الجسم الحي) المعاملة بتراكيز مختلفة من بروتين الكازائين المنقى من حليب الابل العراقية باستخدام طريقة MTT.



الشكل ١٦ : نسبة بقاء الخلايا السرطانيه HepG2 (خارج الجسم الحي)المعامله بتراكيز مختلفه من بروتين الشرش المنقى من حليب الابل العراقيه باستخدام طريقة MTT.

لوحظ من نتائج هذه الدراسة امتلاك بروتينات حليب الابل العراقية لفعالية مضادة للخلايا السرطانية تباينت ما بين بروتينات الكازائين والشرش مما يشير الى امتلاك هذه البروتينات سميه خلويه جيده تجاه الخلايا السرطانية. تتفق نتائج الدراسة الحالية مع العديد من الدراسات (٤١، ٤٧,٤٨,٤٩,٥٠).

بروتينات حليب الابل هي من البروتينات الأساسية التي لها دور فسلجي رئيس باعتباره مصدرا للأحماض الامينية اللازمة للنمو ولها اهمية كبيرة في الكثير من المهام الوظيفية لأعضاء جسم الانسان (٥١) ويعد حليب الابل من المواد الطبيعية التي تمتلك العديد من العناصر ذات الفعالية المضادة للخلايا الحية (17) ويمتاز حليب الابل بعدم تأثيره في الخلايا الطبيعية للجسم (18)، ويحتوي حليب الابل مواد مضادة للأكسدة، الأمر الذي يساعد في حماية أنسجة الجسم المختلفة من التلف، ومما يقلل اصابة الإنسان بالاورام السرطانيه المختلفة(34). وترجع الفعالية العالية ضد الخلايا السرطانية بسبب احتوائه على المواد المضادة للاكسدة (Antioxidants) التي تعمل على ازالة التأثير الضار للجذور الحرة (Free Radicals) وبالتالي منع حدوث الورم السرطاني او ازدياد اعداد الخلايا السرطانية(52) كما ان هذه البروتينات الموجودة في حليب الابل تحتوي على ببتيدات التي تثبط نمو وتكاثر الخلايا السرطانية (٥٣)، ويحتوي حليب الابل على تراكيز من الزنك وبعض الأحماض الأمينية الثيرونين، السيستين، والتيروسين والميثيونين، كما يحتوي على S- Methylglutathione (٥٤)، وعناصر المغنيسيوم والزنك وفيتامين C, B2 في حليب الابل التي تعمل على تحفيز الانزيمات المضادة للاكسدة داخل الجسم مما يقلل من الاصابة بالسرطان لمستهلك حليب الابل (25) كما ان حليب الابل يحتوي على النحاس الذي يقوم بعمليات حيوية مهمة في الجسم وقد أظهرت الدراسات على الحيوانات المختبرية أن عنصر النحاس يعمل كمضاد للأكسدة أذ يوقف عمل ذرات الأكسجين النشطة والتي تعمل كجذور حرة و تؤدي الى تلف الخلايا (٥٦).

اظهرت الدراسات استخدام حليب الابل في معالجة العديد من الحالات المرضية ومن اهمها مرض السرطان واشارت هذه الدراسة الى ارتباط البروتينات في حليب الابل بحالات الموت المبرمج (Apoptosis) وحالات الاجهاد التأكسدي(oxidative) والمصاحبة لحالات الاورام السرطانية، وأشارت الى تثبيط معنوي لخلايا (Hep.G2) و(MCF7)، كما اوضحت ان الحليب يزيد من مؤشرات التعبير عن الاجهاد التأكسدي في الخلايا وذكرت الابحاث ان معالجة حليب الابل لا تتضمن فقط الحث على موت الخلايا السرطانية وانما يسبب توقف تلف DNA وحالة عدم الاستقرار للجينات (57,58) وأظهرت الدراسات قدرة حليب الابل على تثبيط الجينات المحفزة للسرطان على مستوى الحامض النووي الرايبوزي

(RNA) والبروتين، وكذلك مقدرته على تنشيط احد الجينات المضادة للسرطان في خلايا الكبد وسرطان الثدي الانسانية المزروعة واظهرت ايضا قدرة حليب الابل على احداث الموت المبرمج للخلايا السرطانية (٣٥)، وتم استخدمه كمادة مضادة لنمو الخلايا السرطانية في المعمل، حيث أثبتت منعها لنمو خلايا سرطان الرئة المأخوذة من الإنسان وخلايا سرطان الدم المأخوذة من الفئران في المزارع الخلوية، كما حاربت انتشار السرطان في حيوانات التجارب (الفئران) المسرطنة بسرطان الدم (33).

والكازائين احد بروتينات الحليب مع بروتينات اخرى هي مصدر غني بالببتيدات الفعالة بايولوجيا ولها ادوار فسيولوجية في جسم الانسان والتي تتضمن انظمة الأوعية القلبية والمناعية والعصبية وانظمة الهضم (59). كما يمتاز بروتين الكازائين بفعل مثبط لأنواع مختلفة من الخلايا السرطانية وانه يعمل على تثبيط نمو العديد من انواع الخلايا السرطانية وتنظيم الموت الخلوي المبرمج Apoptosis للخلايا المختلفة(*38*)، يعمل الكازائين على تقليل نمو الخلايا السرطانية بمقدار خمسة مرات وتثبيط حدوث ظاهرة الانبثاث (Metastasis) في سرطان الثدي بمقدار عشر مرات من خلال تثبيط عامل +CD44 في الخلايا الجذعية السرطانية (40).

المصادر:

1) Coufal, M., Maxwell, M.M., Russel, D.E., Amore, A.M., Altmann, S.M., Hollingsworth, Z.R., Young، A.B., Housman, D.E. & Kazantsev, A.G. (2007). Discovery of Novel Small-Molecule Targeting SelectiveCulture Study of Human Lung Cancer Cells A549. JKAU- Medical Sciences, 12, 3- 18.
2) Widodo, N., Kaur, K., Shrestha, B.G., Takagi, Y., Ishii, T., Wadhwa R. & Kaul, S.C. (2007). Selective killing of Cancer Cells by Leaf Extract of Ashwagandha: Identification of a Tumor-Inhibitory Factor and the First Molecular Insights to its Effect. Clinical Cancer Research, 13, 2298-2306
3) Steven A. and Lowe J. (2000). Pathology 2nd ed. Mosby. London. 79 -104.
4) Vassilakopoulou, M., G. Mountzios, C. Papamechael, A.D. Protogerou and K. Aznaouridis et al., (2010). Paclitaxel chemotherapy and vascular toxicity as assessed by flow-mediated and nitrate-mediated vasodilatation. Vascular Pharmacol., 53: 115-121.Vol.2, No.5.
5) Khorshid, F., Alshazly, H., Al Jefery, A. & Osman, A.M.M. (2010). Dose Escalation Phase I Study in healthy volunteers to evaluate the safety of a natural product PM701. J. Pharmacol. Toxicol., 5: 91-97
6) Susa, M., A.K. Iyer, K. Ryu, F.J. Hornicek, H. Mankin, M.M. Amiji and Z. Duan, (2009). Doxorubicin loaded polymeric nanoparticulate delivery system to overcome drug resistance in osteosarcoma. BMC Cancer, 9: 399-399.
7) Mohan, M., S. Kamble, P. Gadhi and S. Kasture, 2010. Protective effect of Solanum torvum on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. Food Chem. Toxicol., 48: 436-440.
8) Dantas, A.C.B., F.F.A.B. de Junior, L.F. Macedo, M.N.C. Mendes, I.M. Azevedo and A.C. Medeiros, 2010. Protective effect of simvastatin in the cyclophosphamide-induced hemohrragic cystitis in rats. Acta Cir. Bras., 25: 43-46.
9) Ghorab, M.M., F.A. Ragab, S.I. Alqasoumi, A.M. Alafeefy and S.A. Aboulmagd, 2011. Synthesis of some new pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives of

١٦) وهبه حسن فاروق، مجدي محمد الشهاوي (٢٠٠٤) سر علاج السرطان،مكتبة الرحمة المهداة،الطبعة الاولى.

17) Ewina، M.A. (2006) Comparative Biochemical and Microbiological studies of Camels، Cow and Mature mothers milk. Kafr-El-Sheik. Vet. Med. J. 4 (1) : 225-230.

18) El-elyni، R.A. and Khalifa، S.A. (2006) Histological studies on the effect of Camels urine and milk on stomach of Albino mice. Saudi J. Biol. Scien. 13 (2):63-69.

19) Reed, J.C., (2002). Apoptosis-based therapies. Nat. Rev. Drug Discov., 1: 111-121.

20) Al-Moussawi، N.H. (2012) Effect of Camels milk on Hematological and Biochemical parameters of male rats treated with zinc chloride. J. Thi-Qar Sci. 3(3): 13-20.

21) Tsuda, H. and Sekine, K. (2000). Milk Components as Cancer Chemopreventive Agents: Mini-Review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 1: 277-282.

22) Tsuda, H.; Sekine, K.; Ushida, Y., (2000). Milk and dairy products in cancer prevention: focus on bovine lactoferrin. *Mutation Research*. 462: 227-233.

23) Magdi، A.O. Ibrahim، E.A. and Hamid، A.D. (2010) Biochemical Changes occurring during fermentation of camel milk by selected bacterial starter cultures. African. J. Biotech.9 (43) : 7331-7336.

24) Konuspayeva, G., Serikbayeva, A., Loiseau, G., Narmuratova, M., Faye, B., (2004). In: Bernard, Faye, Palmated, Esenov (Eds.), Desertification Combat and Food Safety: The Added Value of Camel expected anticancer and radioprotective activity. Eur. J. Med. Chem., 45: 171-178.

10) Sodde, V., N. Dashora, K.S. Prabhu and R. Lobo, (2011). Evaluation of anticancer activity of Macrosolen parasiticus (L.) danser on ehrlich's ascites carcinoma treated mice. Int. J. Cancer Res., 7: 135-143.

11) Moshref, S.S. (2007). PM 701 A Highly Selective Anti-Cancerous Against L1210 Leukemic Cells :IIIn Vivo Clinical and Histopathological Study. JKAU. Medical Sciences, 14(1), 85-99.

12) Chabner, B.&Grever. M. (1997): Cancer Drug Discovery and Development in Cancer Propels andPractice of oncology. Cytotoxicity of Some Medical Plant Extract Used in Tanzanian Traditional Medicine.Journal of Ethnopharmacology,70, 143-149.

13) Khorshid, F.A.(2005). Comparative study of Keloids Formation in Human and Laboratory Animals. Medical science monitor, 11(7), BR212-219.

١٤) فتحي، عبد الفتاح محمد (٢٠١٢) مرض السرطان من منظور طبي – اجتماعي دراسة اجتماعية تحليلية. محلة ابحاث كلية التربية الاساسية، المجلد (١٢) العدد (١) العراق.

15) Behdani M.، M. Hossein inejad Chafi، S. Zeinali، M. Karimipour، A Khana hmad (2010). antiserum production in immunized camel by the venom of hemiscorpiuslepturus scorpion, evaluation of neutralizing test in vivo. University of Tehran، Tehran، Iran.

٣٤) عبد المجيد سيدات (٢٠١١)، استعمال حليب الإبل للعلاج من بعض الأمراض كالتقرحات والأمراض السرطانية. ملتقى البحوث العلمية، الدمام، المملكة العربية السعودية.

٣٥) الحيدر عبدالقادر بن عبدالرحمن، هشام محمد قرشي، ايمن القاضي (٢٠١١) تأثير حليب وبول الابل في تثبيط خلايا الكبد السرطانية وسرطان الثدي الانسانية المزروعة. جامعة الملك سعود، المملكة العربية السعودية.

36) Konuspayeva, G.; Faye, B. and Loiseau, G. (2009). The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *J Food Composition and Analysis*. 22: 95-101.

37) Shamsia، S.M. (2009) Nutritional and Therapeutic proper34. ties of camel and human milks. Int. J. Gene. Molecul. Biol. 1 (2) : 52-58.

38) Martinez، E. Cordero، C. and Osorio، E. (2012) Casein induces the proliferation of bone marrow mononuclear cells، Apoptosis، of WEHI-3 leukaemic cells and increased survival in leukemia mouse model. Oncology letters. 4 :461-466.

39) Quita، S.M. and Kurdi، L.A.F. (2010) Antigenotoxic and anticytotoxic effect of camel milk in mice treated with cisplatin. Saudi j. biological Science. 17 : 159-166.

40) Bonuccelli، G. Cros، R. and Sotgia، F. (2012) The milk protein α-Casein functions as a tumor suppresser via activation of STAT1 Signaling، effectively preventing breast cancer tumor growth amd metastasis. Landes Biosciences Journals. 11 (21): 3972-3982.

Producers. IOS Press, Amisterdam, Ashgabad, Turkmenistan, pp. 158–167.

25) Magjeed, N.A., (2005). Corrective effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats intoxicated with aflatoxin B1. J. Saudi Chem. Soc., 9: 253-264.

26) Ozdemir G. and Inane F. (2005). Zinc may protect remotocular injury caused by intestinal ischemia reperfusion in rats. Tohoku J. Exp. med. 206:247-251.

27) Aly, F.A., Donya, S., 2002. In vivo antimutagenic effect of vitamins C and E against rifampicin-induced chromosomal aberrations in mouse bone-marrow cells. Mutat. Res. 518, 1–7.

28) Afifi، M.E. (2010) Effect of camel milk on Cisplatin – Induced Nephrotoxicity in Swiss albino mice. Am. J. Biochem and Biotech. 6: 141-147

29) Rao, M.V., Chinoy, N.J., Suthar, M.B., Rajvanshi, M.I., (2001). Role of ascorbic acid on mercuric chloride-induced genotoxicity in human blood cultures. Toxicol. in Vitro 15, 649–654.

30) Cabrera, C., Jimenez, R., Lopez, C., (2003). Determination of tea component with antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 51, 4427–4435.

31) Hassan, N.H., Fahmy, M.A., Farghaly, A.A., Hassan, E.E., (2006). Anti-mutagenic effect of selenium and vitamins against the genotoxicity by cobalt chloride in mice. Cytologia 71, 213–222.

32) Hurna, E., Hurna, S., (2000). Protective effect of zinc on cadmium- induced micronuclei in V79 cells. J. Trace Elem. Med. Biol. 14, 55–57.

33) Khorshid, F.; Mushref, S. and Heffny, N. (2005). An Ideal Selective Anti-Cancer Agent *In Vitro:* ITissue Culture Study of Human Lung Cancer Cells A549. *J King Abdulaziz Un Med Sc.* 12: 3-19.

٤١) العاني، محمد قيس (٢٠١٣)، عزل وتنقية بروتين الكازائين من حليب الابل العراقية *Camelus dromedaries* وتقييم فعاليته ضد انواع من الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي.

42) Phelan، M. Aherne، S. and Nora، M. (2010) Growth inhibitory effect of Casein hydrolysates on human cancer cell lines. J. Dairy. Res. 77 : 176-182.

43) Al-Mahdy، O. El-Fakharany، E. El-Dabba، E. and Redwan، E. (2011) Examination of the activity of camel milk casein against Hepatitis C virus (Genotype-4 a) and its apoptotic potential in Hepatoma and Hela cell line. Hepat. Mon. 11 (9):724-730.

44) Kim، S. Jun، D. Kim، H. Jeony، K. and Lee, Ch. (2011) Development of High content screening method for chemicals modulating DNA damage response. J. Biomol. Screen. www.slas.org

45) Haney، S.A. (2008) High Content Screening. Science Techniques and Applications. New York. Wiley-Interscience. Gasparri، F. (2009) An Overview of Cell Phenotypes in HCS : Limitations and advantages. Expert Opinion on Drug Discovery. 4 (6): 643-657.

46) Gasparri، F. (2009) An Overview of Cell Phenotypes in 46. HCS : Limitations and advantages. Expert Opinion on Drug Discovery.

47) Khorshid, F.A. and S.S. Moshref,(2006). In vitro anticancer agent, I-tissue culture study of human lung cancer cells A549 II-tissue culture study of mice leukemia cells L1210. Int. J. Cancer Res., 2: 330-344.

48) Zhivotovskyand G. Kroemer (2004). Apoptosis and genomic instability. Nature Reviews Molecular Cell Biology Vol. 5, No. 9، pp: 752-762.

49) Moshref, S.S., Khorshid, F.A.& Jamal, Y.(2006). The Effect of PM 701 on Mice Leukemic Cells: I - Tissue Culture Study of L1210 (In Vitro) II - In Vivo Study on Mice, JKAU- Medical Sciences، 13 (1), 3-19.

50) Khaskheli, M. ; Arain, M.A. ; Chaudhry, S. ; Soomro, A.H. and Qurlshi, T.A.(2005). Physico-chemical quality of camel milk.J.Agri.Soc.Sci.، 1(2) : 164-166.

51) Holt، C. (1997) The Milk salts and their interaction with casein. In Fox P.F. advanced Dairy chemistry. London.Chapman and Hall.

52) Abdel-Majeed، N.A. (2005) Comparative effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats intoxicated with aflatoxin B1. J. Saudi Chem. Soc. 9 (2) : 253-264.

53) Hartman, R and Meisel, H. (2004). Casein phosphor-peptides and their cell modulating potential biofacters 2:73-78.

54) El-Shahawy, A., Elsawi, N.M., Baker, W.S., Khorshid, F. & Geweely, N.S. (2010). Spectral Analysis، Molecular Orbital Calculations and Antimicrobial Activity of PMF-G Fraction Extracted from PM-701.International Journal Pharma Bioscience, 1(2): 1-19

55) Arrowal, R.P., Beniwal, R. Kochar, D.K., Tuteja،F.C., Ghorui, S.K., Sahaui, M.S., Sharma, S.. (2005): Camel milk as an adjunct to insulin therapy improves long-term glycaemia control and reduction

in doses of insulin in patients with type-1 diabetes A 1 year randomized controlled trial. – Diabetes Res. Clin. Pract68:17.

56) Wyllie, A.H., C.O. Bellamy, V.J. Bubb, A.R. Clarke and S. Corbet et al., 1999. Apoptosis and carcinogenesis. Br. J. Cancer, 80: 34-37.

57) Khorshid, F.A., Rahimaldeen, S.A. & AL-Amri, J.S. (2011). Apoptosis Study on the Effect of PMF on Different Cancer Cells. International Journal of Biological Chemistry, 5, 150-155.

58) Korhonen H. & Pihlanto A. (2006). Bioactive peptides : production and functionality. International Dairy Journal 6, 975-960.