الترقيم الدولي ٨٦٩٠ ـ ١٩٩١ ISSN 1991- 8690

Website: http://jsci.utq.edu.iq Email: utjsci@utq.edu.iq

دور فيتامين C في تقليل التشوهات الكروموسوميه في ذكور الفئران البيض المجرعة بعقار البراسيتامول

أشواق شاكر نعمه

كلية الطب البيطري – جامعة القادسية – الديوانية

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لغرض التعرف على أهم التأثيرات الوراثية لعقار البراسيتامول إضافة إلى الدور الفعال لفيتامين C في تقليل هذه التأثيرات من خلال بعض المعايير المختبرية التي أجريت على ذكور الفار الأبيض .

شملت هذه المعايير اختبار التشوهات الكروموسوميه والمتمثلة بمشاهدة الكسور الكروموسومية , حيث جرعت حيوانات التجربة بواقع (٠,٠٠٥ و ٥ ملغم / كغم) من عقار البراسيتامول عن طريق الفم وعلى مدى ٢٤ و ٧٢ ساعة وبمعدل جرعة واحدة كل ٢٤ ساعة. أظهرت النتائج زيادة التغييرات الكروموسومية بزيادة الفترة الزمنية وزيادة التركيز , حيث بلغت الكسور الكروموسومية بعد ٢٤ ساعة من المعاملة (٠,١٢ و ٠,٨٤ %) لتركيزي البراسيتامول (٠,٠٠٥ و ٥ ملغم / كغم) على التوالي وهذا الارتفاع شكل فرقا" معنويا" عند المقارنة مع السيطرة السالبة (٠,٠٨ %) أما بالنسبة للفترة ٧٢ ساعة فقد لوحظ ارتفاع معنويا" في معدل التشوهات حيث بلغ (٠,٣٤ و ٢,١٤ %) للتركيزين (٠,٠٠٥ و ٥ ملغم / كغم) على التوالي عند المقارنة مع السيطرة السالبة (٠,٠٨ %) كما تناولت الدراسة تقييم فيتامين C ودوره الفعال في تقليل نسبة الكسور الكرموسوميه من خلال تجريع الحيوانات المجرعة بعقار البراسيتامول بواقع (٥ ملغم/ كغم) بـ % ٠,٥ من فيتامين C المضاف مع ماء الشرب . حيث تم تسجيل انخفاضات واضحة لمعدل الكسور الكروسومية المستحثة من قبل عقار البراسيتامول حيث بلغ (٠,٣ %) بعد مرور ٢٤ ساعة من المعاملة وهذا الانخفاض شكل فرقا معنويا عند المقارنة مع الحيوانات المجرعة بالعقار بتركيز (٥ ملغم / كغم) لوحدة . وهذا الانخفاض بدا بالزيادة بزيادة الفترة الزمنية حيث بلغ بعد ٧٢ ساعة (١,٠٦ %) والذي شكل فرق معنويا" عند المقارنة مع الحيوانات المجرعة بالعقار بواقع (٥ ملغم / كغم) والذي بلغ بعد ٧٢ ساعة (٢,١٤ %) .

المقدمة

استخدمت المعايير الوراثية الخلوية بشكل واسع لتقييم قابلية العوامل الفيزياويه والكيمياويه المختلفة في أحداث الطفرات الوراثية في الخلية الحيه ، حيث تعد التغييرات التي تحدثها هذه العوامل بمثابة دليل على خطورتها على صحة الكائنات الحيه وصحة الإنسان بالدرجة الأساس وان هذه التغييرات الوراثية (الطفرة Mutation) قد تسبب السرطان أو حدوث التشوهات الخلفية (Giavini *et al.*,1990). وتقسم هذه المعايير إلى اختبار الانحرافات الكروموسوميه وتكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم وتشوهات رؤوس النطف كاختبارات بايولوجيه (Hongslo *et al.*, 1990) .

أن سميه المواد الكيميائية تحتاج إلى وقت طويل قبل أن تظهر فيها ميكانيكات مختلفة مثل التغير في العدد والتركيب والسلوك وهذا خاص بالكروموسومات أو تثبيط الانزيمات أو تغيير في تركيب الغشاء البلازمي والسايتوبلازم (Cross *et al.*, 1996) أن تعرض الإنسان بشكل مباشر أو غير مباشرة للمواد الكيميائية يؤل إلى تجمع هذه المواد في جسمه مما يسبب حدوث إمراض وراثيه مختلفه مثل السرطان والتشوهات الولاديه . (Giavini *et al.*, 1990) البراسيتامول مادة غير ستورويده مقاومه للحمى كما أنها ماده مهدئة واسعة الانتشار لقتل الألم (Coher and Ellwien,1991) أن البراسيتامول له تأثير سمي على انقسام الخلايا الطبيعي في الإنسان وخلايا النبات (Maszewski, 1997) .ذكر كل من (Aidoo *et al.*, 1994) و (Czyzewska *et al.*, 1995) أن البراسيتامول له القدرة على الارتباط والتداخل مع المواد الوراثية وهذا بدوره يؤدي إلى حدوث تغييرات في سلوك الكروموسومات وتركيبها أثناء الانقسام الخيطي كما أن تأثيره لا يقتصر على الإنسان والنبات فحسب بل تعداه حتى على الحيوانات مثل رتبه القوارض حيث يؤثر على انقسام الخلايا الطبيعي في الجرذان (Ghosh *et al.*, 1985) كما ذكر (Kocisova and Sram,١٩٩٠) أن للعقار تأثير سمي وراثي تم تسجيله في عدد من الانظمه الاختبارية مثل التشوهات في عدد من الأجنة إضافة إلى تثبيط صناعة شريط الـ DNA وزيادة التغييرات للكروماتيدات الشقيقة في خلايا الهامستر .

في حين لوحظ أن العقار لا يسبب أي نوع من الطفرات على صعيد بكتريا السالمونيلا (Chen *et al.*, 1988).

ألا أن (Wengsie and Meclean ,1999) لاحظ أن للعقار تأثير في تغيير التركيب الكروموسومي في الخلايا اللمفيه للأشخاص المتبرعين بعد اخذ ٣ غم عن طريق الحقن . وهذا مخالف لما جاء به Ying and Yi, (2000) حيث ذكر أن العقار لا يسبب أي تشوهات كروموسومية في الخلايا اللمفيه للمتبرعين الذين تم أعطائهم ١ غم كل ٦ ساعات أو على مدى أسبوع ولا في الأشخاص الذين يحاولون الانتحار عن طريق اخذ جرعات عاليه جدا" من العقار .

أن فيتامين C أو ما يعرف بـ Ascorbic acid هو عبارة عن مادة غذائية أساسية وأداة فعاله في الجسم وله العديد من التأثيرات البايولوجيه ويعتبر عامل مضاد للسرطان في العديد من التقارير العلمية وان قابلية فيتامين C المضادة للسرطان تبقى في أطار أثارة الجدل (Prasad, 1995) .كما أن فيتامين C يمتلك تركيز غير سمي حيث يقدم تأثير تعاوني عند اتحاده مع علاجات أو عقاقير معينه وان هذا التأثير التعاوني ينصب في تثبيط نمو أورام الخلايا في المزارع خارج الزجاج (*e tal.*,١٩٩٦ Hantson).ذكر (Cross *etal.,1996*) أن استخدام فيتامين C مع بعض المواد المستحثه للطفرات الوراثية مثل السسبلاتين في القوارض قاد إلى انحسار الورم بمعنى زيادة نسبه بقاء المضيف على قيد الحياة وهذه النتائج

أثارت أفكارا"حول تثمين أو تقييم الفعالية العالية للفيتامين ضد الأورام .

أشارت عدد من الدراسات إلى دور فيتامين C في حماية القدرة الإنتاجية لنطق الإنسان وخصوصا" عند استخدامه كغذاء للحميه حيث أن فيتامين C يساعد على أصلاح الضرر في شريط الـ DNA وبالتالي يؤثر على كميه النطق المنتجة وسلامتها من التشوهات (Hongslo١٩٩٠ *et al.*,) .

المواد وطرق العمل

حيوانات التجربة

استخدمت ذكور الفئران البيض (mus musculus) وبمعدل عمر يتراوح بين (٩ – ١٢)أسبوع وبوزن(٢٥ ∓ ٣غم) والتي جهزت من قبل جامعة بغداد ووزعت في أقفاص لدائنية بهيئة مجاميع وحسب حاجة التجربة وقد أعطيت الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة القيمه الغذائية حيث جرعت الفئران بجرعتين من العقار (0.005 و 5 ملغم / كغم) عن طريق الفم حيث شرحت الحيوانات بعد ٢٤ ساعة من المعاملة و ٧٢ ساعة من المعاملة وبمعدل جرعة واحدة كل ٢٤ ساعة Wengsie and Meclean (1999) وقورنت النتائج مع نتائج معاملة السيطرة والتي جرعت حيواناتها بالماء المقطر فقط كما تم المقارنة مع مجموعة من الحيوانات تم تجريعها بالتركيز العالي من العقار مضافا" أليه ٠,٥% من فيتامين C.

المحاليل المستعملة

١- داري الفوسفات الملحي (PBS) Phosphate Buffer Saline

اتبعت طريقة ((Hudson & Hay, 1980 أذيبت المكونات أدناه في ٥٠٠ مل من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى ١٠٠٠ مل:-

٠,٢٠ غم كلوريد البوتاسيوم KCl

٨,٠٠ غم كلوريد الصوديوم NaCl

١,١٥ غم فوسفات الصوديوم احادية الهيدروجين Na2 HPO4

٠,٢٠ غم فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين KH2 PO4

وثبت الرقم الهيدروجيني pH عند ٧,٢ وعقم بالموصدة (١٢١ مْ وضغط ١٥ باوند/ إنج٢ لمدّة ٢٠ دقيقة) ثم حفظ في الثلاجة (٤ مْ) .

٢- الكولجسين Cholchicin solution

اذيبت حبه واحده من الكولجسين ذات وزن ١ ملغم في 0.5 مل من محلول رقم ١ المعقم واستخدم المحلول انيا بعد تحضيره بحقن كل حيوان ب 0.25 من هذا المحلول في غشاء الخلب Inter Peritoneal Injection

٣- كلوريد البوتاسيوم الواطىء الشد solution Hypotonic

اتبعت طريقة (Allen et al., 1977) وكالاتي:-

أذيبت ٢,٨٥ غم من ملح كلوريد البوتاسيوم في ٢٥٠ مل ماء مقطر ثم أكمل الحجم إلى ٥٠٠ مل من الماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني إلى ٧,٢ ثم عقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة ٤ مْ .

٤- محلول التثبيت Fixative solution

اتبعت طريقة (Allen *et al*., 1977) وكالأتي:-

حضر المحلول بمزج ثلاثة حجوم من الكحول المثيلي المطلق مع حجم واحد من حامض الخليك الثلجي وحفظ في الثلاجة ٤ مْ واستخدم آنياً .

٥- محلول داريء سورنسن Sorensons Buffer

حضر المحلول حسب طريقة (Yassen,1990) وكالأتي:

حضر المحلول بإذابة٧,٠٨ غم من مادة فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين (Na2 HPO4) و٦,٧٤ غم من مادة فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (KH2PO4) في ٥٠ مل من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى ١٠٠ مل وعقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة(٤ مْ)

٦- صبغه كمزا Giemsa Stain

جهز الملون من معهد المصول واللقاحات ببغداد واستخدمت وفقا للطريقه المرفقه مع العده

الطرائق المختبرية

تضمنت الطرائق المختبرية أجراء بعض الفحوصات الوراثية في ذكور الفار الأبيض :-

١- استخلاص كروموسومات خلايا نقي العظم mitotic Index

اتبعت طريقة (Allen *et al*., 1977) إذ حقن كل فأر بـ ٠,٢٥ مل من محلول الكولجسين عن طريق غشاء الخلب،وبعد مرور ساعتين ، ضحي بالحيوان بطريقة فصل النخاع الشوكي من العنق وشرح مباشرة لغرض الحصول على الخلايا الجسمية من نقي العظم وكما يأتي:-

١- شرح الحيوان وذلك بقص الجلد مباشرة واستخرجت الأعضاء من مواقعها .

٢- باستخدام محقنه معقمة و ٥ مل من المحلول رقم (١) ، ثم استخرجت الخلايا من نقي العظم بإستخدام دارئ الفوسفات الملحي (محلول رقم ١) ثم وضعت في أنبوبة إختبار سعة ١٠ مل .

٣-نبذت الأنابيب بسرعة ٢٠٠٠ دوره / دقيقة لمدة ٥ دقائق .

٤- أزيل الطافي وأضيف إلى الراسب ١٠ مل من محلول كلوريد البوتاسيوم الواطئ الشد (المحلول رقم ٣) ثم حضنت الأنابيب في حمام مائي هزاز بحرارة ٣٧مْ ولمدة ٣٠ دقيقة .

٥- نبذت الأنابيب بسرعة ٢٠٠٠ دوره /دقيقة ولمدة ٥ دقائق .

٦- أزيل الطافي وأضيف إلى الراسب ٥ مل من المحلول المثبت المحضر آنياً بالتدريج على شكل قطرات تنسال على الجدار الداخلي للأنبوب مع المزج المستمر ثم أكمل حجم المثبت المضاف ليصل إلى ٥ مل. ٧- وضعت الأنابيب بدرجة حرارة ٤ مْ لمدة نصف ساعة لغرض تثبيت الخلايا.وأعيدت عملية التثبيت ثلاث مرات .

٨- نبذت الأنابيب بسرعة ٢٠٠٠ دوره/دقيقة ولمدة ٥ دقائق، ثم أزيل المحلول الطافي وعلقت الخلايا مرةً أخرى في حجم مناسب ١-٢ مل من المثبت البارد.

٩- رجت الأنابيب الحاوية على الخلايا المثبتة وتم إسقاط (٦-٨) قطرات من محتويات الأنبوبة على شريحة زجاجية نظيفة بصورة عمودية من مسافة حوالي ٣ أقدام لإتاحة الفرصة للخلايا للانتشار بشكل جيد ثم جففت الشرائح على الصفيحة الساخنة (٥٠ مْ).

١٠- صبغت الشرائح بملوّن كمزا لمدة ١٥ دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر وتركت لتجف، وفحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي الاعتيادي بالعدسة الزيتية حيث تم فحص ١٠٠٠ خلية وحسبت الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة منها واستخرج معامل الانقسام وفق المعادلة التالية:

معامل الانقسام(%) = عدد الخلايا المنقسمة /العدد الكلي للخلايا × ١٠٠

٢- اختبار الانحرافات الكروموسوميه Chromosomal AberrationAssay

العدسة الزيتية فحصت(100)خليه منقسمة وواضحة في الطورالاستوائي من الانقسام الخيطي بحيث تكون الكروموسومات جيده الانتشار لغرض مشاهدة التغيرات الكروموسوميه ثم حسبت النسبة المئوية لهذا التغييرات (Allen *et al*., 1977).

النتائج والمناقشة

توضح النتائج المبينة في الجدول رقم (Aidoo *et al*.,1994) بان لعقار البراسيتامول دورا" كبيرا" في رفع مستوى الكسور الكروموسومية حيث بلغت (0.12 و 0.84 %) عند المعاملة بالتركيزين (0.005 و 5 ملغم / كغم) على التوالي حيث شكل هذا الارتفاع فرقا" معنويا" عند مستوى احتمالية (الاحتمالية < 0.05) عند المقارنة مع السيطرة السالبة (0.08 %) حيث تم الحصول على

هذه النتائج بعد فترة 24 ساعة من المعاملة حيث كانت هذه النتائج مشابهة لما جاء به (Cross *et al.,1996*) وهذا الارتفاع العالي يعود إلى ارتباط البراسيتامول مع المادة الوراثية للخليه كما يعزز التشوهات الفسيولوجيه في الخلايا المعاملة مثل تعدد القطبية للكروموسوم في الطور الانفصالي النهائي والتكثيف المبكر للطور التمهيدي .

كما أن للعقار القابلية على الاتحاد مع البروتينات داخل الخلية قبل الهستون والتوبيولين . (*et al., 1996* Hantson) أما بالنسبة للنتائج التي تم الحصول عليها بعد فترة 72 ساعة فقد لوحظ ارتفاع واضح في معدل الكسور الكروموسوميه حيث بلغت (0.34 و 2.14 %) عند التجريع بالتركيزين (0.005 و 5 ملغم / كغم) على التوالي وهذا الارتفاع شكل فرقا" معنويا" عند المقارنة مع السيطرة السالبة (0.08 %) وهذا يدل على قابلية العقار على الاتحاد والتفاعل مع شريط الـ DNA وهذا بدوره يقود إلى التسبب بحدوث تشوهات في الكروماتين مثل تكثيف الكروماتين وكسور كروموسوميه وكروماتيديه وتكون نوى صغيرة . أن عقار البراسيتامول يسبب زيادة انقسام الخلايا في الجرذان عند التراكيز الواطئة في حين أن التراكيز العالية تثبط معامل انقسام الخلايا (Prasad, 1995) أن التتابع العالي للتاثيرات الوراثية تكون واضحه في الطور الانفصالي النهائي أكثر من أطوار دورة الخليه الأخرى والتي تقترح بان فعالية العقار تتمركز في S/G2 ذكر (Chen *et al.,* 1988) أن دور العقار وسلوكه المتسم بالاتحاد مع جزيئة الـ DNA للخلية تؤدي بدورها إلى حدوث كسور كروموسوميه وبالتالي فان التجمع لهذه التشوهات تسبب موت الخلايا وتحللها بالكامل وهذا بدورة سوف يقلل من عدد الخلايا وبالتالي سوف يقل معامل انقسام الخلايا. ومن خلال ذلك نستنتج بان للعقار فعالية في الطور S/G2 بالنسبة للتراكيز الواطئة أما التراكيز العالية فأنها تؤثر على مرحلة S /G1 والتي تؤدي إلى انخفاض عدد الخلايا في الطور الاستوائي والذي يكون هو ناتج عن ارتفاع الكسور الكروموسوميه عند المعاملة بالتراكيز العالية .كما أن التشوهات الكروموسوميه لوحظت بشكل عالي بعد 24 ساعة من المعاملة وذلك لان تأثير العقار قد تزامن مع الطول الطبيعي لدورة الخليه والتي تتراوح من (٢٢– ٢٤ ساعة) (Ghosh*et al.,* 1985)كما أن عدد الخلايا المعاملة بالعقار قد انخفض بعد فترة 24 ساعة وهذا يعود إلى موت الخلايا المتضررة أو قد يعود إلى قدرة الجسم على التخلص من العقار بعد استئناف عمليات الإصلاح الخاصة بتضاعف جزئية الـ DNA .كما تم التطرق إلى دور فيتامين C الفعال في تقليل نسبه الكسور الكروموسوميه حيث بلغ معدل الكسور الكروموسوميه في الحيوانات المعاملة بالتركيز (5 ملغم / كغم) من عقار البراسيتامول (0.84 %) ألا أن هذه النسبة مالبثت أن انخفضت إلى (٠,٣ %) عند استخدام فيتامين C كعامل مثبط للتشوهات وشكل هذا الانخفاض فرقا" معنويا" عند مستوى دلاله (الاحتمالية < 0.05) واستمر هذا الانخفاض بالتزايد بعد فترة 72 ساعة حيث بلغ (1.06 %) والذي شكل فرقا" معنويا عند المقارنة مع المعاملة بالتركيز (٥ ملغم / كغم) بمفرده والذي بلغ (٢,١٤ %) ويعود هذا الدور الفعال لفيتامين C في تقليل التشوهات الكروموسومية إلى قدره فيتامين C على زيادة مستويات الكلوتاثايون في خلايا نقي العظم حيث يعملان معا" لتقليل تأثير التأكسد أو يعتبران ذات تأثير تعاوني لإنتاج مضادات الأكسدة وهذا بدوره يقلل التشوهات وبذلك فان فيتامين C يعتبر ماده حماية وسطيه ضد المواد المستحثة للطفرات كما أنه يكمل البلوغ الصحي للجسم ككل (Maszewski,1997)

الطرائق الإحصائية

تم تحليل نتائج هذه الدراسة باعتماد النظام الإحصائي (SPSS, 1985) وفقاً للنموذج الإحصائي التالي One way classification:

$Yij = \mu + \alpha_i + eij$

Yij= تمثل معدل الصفة قيد الدراسة.

μ= تمثل المتوسط العام للتجربة.

α_i= تمثل تأثير الجرع حيث i= السيطرة السالبة والجرع ٠,٠٠٥ و ٥ ملغم/ كغم والجرعه ٥ ملغم /كغم + فيتامتن C . eij= تمثل الخطأ العشوائي.

وقد استخدم اختبار اقل فرق معنوي (L.S.D.) Least Significant Difference لمعرفة معنوية الاختلافات بين معدلات العوامل المختلفة.

REFERFNCES

1. Aidoo,L.E.Lyn-Cook,S.Lensing,W.Wamer, (1994) Ascorpic acid(vitamin C) modulates the mutagenis effestc produced by an alkylating agents in vivo, Environ.Mol.Mutag.24:220-228 .

2. Czyzewska, A., L.Mazur, (1995) Suppressing effect of WR-2721 on micronuclei induced by cyclophosphamide in mice, Teratog.Carcinog. Mutog. 15:109-114.

3. Giavini, E., Lemonica, I.P, Lou, Y. Proccia, M.L, Prati, M. (1990) Induction of micronuclei and toxic effects in embryos of pregnant rats treated before implantation with anticancer drugs: cyclophosphamide, cis-platinum, Adriamycin,Teratog.Carcinog.Mutog.10:417-426.

4. Ajayk, J., and Sethi, N. (1991) Chromosomal aberration and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes II induce by ascorbic acid (Vitamin C). Cytologia 56:543-547.

5. Allen, J.W, shuler, C.F, mendes, R.W. and latt, S.A.(1977) A simplified technique using 5-brombo-deoxy uridine tablets. Cytogenet .Cellgenet .,18:231-237 .

6. Coher, S.M. and Ellwien, L.R. (1991) Genetic error,Cell Proliferation andCarcinogenesis . Cancer Res., 51:6493-6505.

7. EL Garbulli, F. Bashasha,J.(2005) Effect of Aspirin on cell division .New Trends in Sience and Their Applications. 1, 9-18.

8. Cross, H.J, Tilby, M, Chipman, J.K,Ferry, D.R, Gescher,A.(1996)Effect of quericetin on the genotoxic potential of cisplatin ,Int.J.Cancer 66 :404-408.

9. Hantson, P., Georges, S., Mahieu, P., Leonard,E.,Crutzen, M., and Leonardo A.(1996) Evaluation of the ability of paracetamol to produce chromosomes abberation in Man.Mutation Res ., 368:293-300.

10. Hongslo ,J.,Bjorge,C.,Schwarze, P., Brogger ,A.,Mann, G.,Thelander, L. and Holme ,J.(1990) Paracetamol Inhibits replicative DNA synthesis and Induced sister chromatid exchang and chromosomal aberration by inhibition of ribonucleotide reducates.Mutagenesis,5 :475-480.

11. Hudson, L.and Hay, F.C. (1980) Practical immunology. Black well .scientific Publications .U.K.

12. Ghosh, j.S.Das, (1985) Evaluation of vitamin A and C status in normal and malignant conditions and their possiple role in cancer prevention, Jpn.J. Cancer Res.76:1174-1178 .

13. Prasad, K.N. (1995) Vitamins induce cell differentiation, growth inhibition and enhance the effect of tumor therapeutic agents on some cancer cells in vitro, in :K.N.Prasad,L.Santamaria,M.Williams(Eds.), Nutrients in Cancer Prevention and Treatment, Humana Precc,NG,PP.265-285.

14. Kocisova,J.and Sram , R.(1990) Mutagenicity studies on paracetamol in human volunteers III. Cytokinesis block micronucleus method. Mutation Res., 244: 27-30.

15. Chen, L. H, Boissonneault, G.A, Glauert, H. P.(1988) Vitamin C, vitamin E and cancer , Anticancer Res.8: 739-748.

16. Maszewski, J. (1997) Extract from maturing antheridia of chara induces increased condensation of mitotic chromosomes in root merstem cell foliage .Histochemtry Cytobiol., 35:227-230.

17. SPSS.(1985).SPSS-Xusers Guide . SPSS .Inc., Chicago,IL.

18. Wengsie ,W. and Meclean A.(1999) Effect of phenolic antioxidants and flavonoids on DNA synthesis in rat liver ,spleen , and testis in vitro .Toxicology ,139:243-253.

19. Yassen,N.Y.(1990) Cytogenetic study of human colorectal cancer cell .ph.D.Thesis ,University of Sheffield.U.K.

20. Ying ,H. and Yi,L.(2000) Effect of aspirin and paracetamol on inner cell mass and protein expression of rat embryos in preggastrulation stage.Zhongguo Yaolixue Yu Du lixue Zazhi 14: 171-17

The role of vitamin C in decrease the chro
albino mice that treated with pa

Ashwaq S. Nehr

Veterinary College - University o