

## التأثير المحفز للنمو الخلوي الشاذ لمستحضرات البارافينيلين ثنائي الأمين

وفاء عبد الحميد اليونس<sup>1\*</sup>، صوفي بركيل<sup>2</sup>، شادي سكريه<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup> قسم تأثير الأدوية والسموم، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، سوريا. [Wafaa.younes@damascusuniversity.edu.sy](mailto:Wafaa.younes@damascusuniversity.edu.sy)

<sup>2</sup> قسم تأثير الأدوية والسموم، كلية الصيدلة، جامعة دمشق، سوريا.

<sup>3</sup> قسم البيولوجيا، كلية العلوم، جامعة دمشق، سوريا.

### المخلص:

يعد مركب البارافينيلين ثنائي أمين أشهر عوامل الطليعة المستعملة في تركيب صبغات الشعر الدائمة. إن التأثيرات الضارة التي يسببها استخدام هذا النوع من الصبغات بحسب بعض الدراسات وجهت نحو إجراء مزيد من الدراسات للتحري عن سلامتها. أجريت الدراسة على خمس صبغ مختلفة من صبغات شعر دائمة حاوية على مركب البارافينيلين ثنائي الأمين كعامل طليعة أساسي. طبقت هذ الصبغات على خلايا الخط الخلوي HEK293T بعد أن تم تحضير محاليلها باستخدام خلية فرانز Franz Cell. عولجت خلايا الخط الخلوي بأربع تراكيز متزايدة من محاليل صبغات الشعر وحضنت مدة 24 ساعة في حاضنة CO<sub>2</sub> 5% بدرجة حرارة 37°C ثم اختبرت عيوشيتها باستعمال تحليل MTT. أظهرت النتائج زيادة معنوية في عيوشية الخلايا عند إضافة أربع صبغ صبغات في حين أن الزيادة التي سببتها الصبغة الخامسة لم تكن ذو دلالة إحصائية بالمقارنة مع الشاهد. إذاً صبغات الشعر الحاوية على مركب البارافينيلين ثنائي الأمين يمكن أن تكون محرضة للنمو لمستويات أعلى من الطبيعي في الزجاج حسب تركيبها وسلامة مكوناتها،

الكلمات المفتاحية: البارافينيلين دي أمين، خلية فرانز، خلايا HEK293T، اختبار MTT

تاريخ القبول: 2022/6/12

تاريخ الإيداع: 2022/3/24

حقوق النشر: جامعة دمشق - سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب CC BY-NC-SA

ISSN: 2789-7214 (online)

<http://journal.damascusuniversity.edu.sy>



## The induction effect of abnormal cellular growth to p-Phenylenediamine preparations

Wafaa Abdulhamid Al-younes\*<sup>1</sup>, Sophie barguil <sup>2</sup>, Chadi soukkarieh<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup> Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Syria  
[Wafaa.younes@damascysuniversity.edu.sy](mailto:Wafaa.younes@damascysuniversity.edu.sy)

<sup>2</sup>Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Syria

<sup>3</sup>Department of Pharmacology & Biology, Faculty of sciences, Damascus University, Syria

### Abstract:

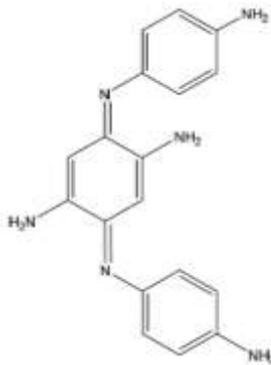
$\rho$ -Phenylenediamine (PPD) is a common primary intermediate used in the composition of permanent hair dyes. The harmful effects which are caused by this type of hair dyes are directed toward further studies to evaluate the safety. The study is applied to five different formulas of hair dyes containing  $\rho$ -Phenylenediamine as basic primary intermediate. These hair dyes were applied on HEK293T cell line after preparing their solutions by Franz cell. The cell line was treated with four concentrations of hair dye solutions and incubated for 24 hours in 5% CO<sub>2</sub> incubator at 37°C then tested by MTT assay. The results appeared significant increase in viability of cells after added four formulas of hair dyes whereas the increase of viability of cells that caused by the fifth one was not significant compared to control. Therefore the hair dyes containing  $\rho$ -Phenylenediamine might be activator to cell growth up to normal in vitro according to its composition of it and safety of components.

**Key Words:** P-Phenylenediamine, Franz Cell, HEK293T, MTT Assay.



## المقدمة:

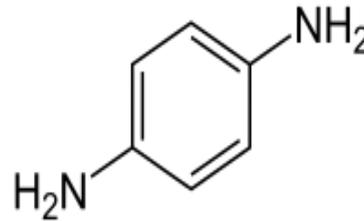
الحاوية على مركب PPD تفوق في انتشارها الصبغات الحاوية على مركب 2،5-ثنائي أمين التولوين (TDA) كعامل طليعة أساسي على الرغم من أن تطبيق الصبغات الحاوية على مركب PPD تسببت في حدوث التهاب جلد dermatitis لأنها تسبب إجهاد تأكسدي (Lee *et al.*, 2020; Oh *et al.*, 2019) إضافة البيروكسيد تتسبب بتشكيل أنواع من الأكسجين التفاعلي تهاجم الدنا DNA وتؤدي لحدوث الطفرات (Chen *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2019; Zanoni *et al.*, 2015). العديد من الدراسات إلى أن التأثير الضار لمركب PPD يعود إلى تشكل أساس باندروكسي الموضح في الشكل (2) بنتيجة الأكسدة الذاتية، ودراسة تأثيرات هذا المركب وجد بأنه يسبب سمية جينية وطفرات وله تأثير مسرطن (Bessegato *et al.*, 2018; Mishra *et al.*, 2020).



الشكل(2): الصيغة الكيميائية لأساس باندروكسي Bandrowski's (Aparecida *et al.*, 2015) base

هناك العديد من الدراسات التي أجريت للتحري عن سلامة صبغات الشعر الدائمة ومنها الدراسة التي قام بها قام بها نونيك وزملاؤه Nohynek *et al.* على صبغات شعر دائمة تجارية وُسم فيها مركب PPD بالكربون  $C^{14}$  حيث تمت متابعته في عينات من الدم والبول وماء غسل الشعر وتمّ التوصل إلى أن نسبة التعرض لمركب PPD صغيرة جداً negligible وأكد بالنتيجة على سلامة استعمال صبغات الشعر الدائمة (Nohynek *et al.*, 2007). أما الدراسة التي قام بها السيجيني وزملاؤه Alseigini *et al.* على اللماويات المحيطية لجرذان متعرضة بالطريق الجلدي لتراكيز مختلفة من مركب PPD

مركب البارافينيلين ثنائي الأمين  $\rho$ -Phenylenediamine (PPD) عبارة عن مادة مكوّنة لأحجار منتشرة في الطبيعة في شمال افريقيا تدعى أحجار الصبغة، شاع استخدامه بداية مع الحناء التي كانت تستعمل آنذاك للرسم على الجلد لتعزيز لونها وضمان بقاءها فترة أطول، ثم أُدخل في تركيب الحنة السوداء وصبغات الشعر الدائمة كعامل طليعة (Panfili *et al.*, 2017)، فصيغته الكيميائية التي هي عبارة عن حلقة بنزن تحمل مجموعتي أمين على الكربون 1 و4 الشكل (1) تسهل عملية الأكسدة الضرورية لهذا المركب كي يتفاعل مع العامل الرابط لإعطاء اللون المطلوب ، من جهة أخرى فإن وزنه الجزيئي الصغير يساهم في قدرته على اختراق مسام الشعرة وتفاعله مع العامل الرابط وتشكيله للجزيء الملون الكبير المسبب لثباتية اللون.



الشكل (1): الصيغة الكيميائية لمركب البارافينيلين ثنائي الأمين (Kim *et al.*, 2016)

يستطيع مركب PPD إعطاء الألوان التي تتراوح درجاتها بين البني إلى الأسود لوحده دون الحاجة إلى عامل طليعة آخر وتستطيع المركبات المشتقة منه أن تعطي ألوان أخرى للصبغات (Corbett, 1999; Venkatesan *et al.*, 2021; Vogel *et al.*, 2017) ، وإن تركيزه في صبغات الشعر يجب ألا يتجاوز 2% بحسب المواصفة الأوروبية (Directive 2009/36/EC) أما المجموعة الأوروبية الاقتصادية للتجميل The European Economic Community Cosmetics Directive فقد سمحت بتواجده في صبغات الشعر بتركيز يصل إلى 6 % من حجم الصبغة النهائي (Alexandra & Vogel, 2016; Meyer & Fischer, 2015). إن الصبغات

سلفوكسيد (DMSO) Dimethyl Sulphoxide (99.8% (شركة أتوم ساينتفك Atom Scientific ، بريطانيا United Kingdom).

## 2. المواد المدروسة

خمس صبغات شعر دائمة تحوي على مركب البارافينيلين ثنائي الأمين كعامل طليعة أساسي مع مجموعة أخرى من المكونات التي تلعب دور عوامل طليعة أيضاً وعوامل رابطة تم ذكرها في الجدول (1).

الجدول (1): عوامل الطليعة والعوامل الرابطة الموجودة في كل من الصبغات المدروسة.

الصبغات					المكونات الفعالة
1	2	3	4	5	
x	x	x	x	x	بارا - فينيلين دي أمين
	x	x			4-أمينو-2-هيدروكسي تولوين
	x				4-كلوريزورسينول
		x			2-أمينو-4-هيدروكسي إيثيل أمينو إينوزول
		x			N,N-(2-هيدروكسي إيثيل)-p-فينيلين دي أمين سلفات
x			x	x	ريزورسينول
x					2-أمينو-6-كلورو-4-نيتروفينول
			x	x	ميثا-أمينو فينول
	x	x			1,5 نافتالين ديول
	x	x		x	بارا-أمينوفينول
		x			1-نافتول

## 3. الخط الخلوي:

تم العمل على خلايا خط خلوي لخلايا ثدييه مشتقة من كلية جنين بشري هي خلايا HEK293T تم الحصول عليها من هيئة الطاقة الذرية في سورية. استتبتت الخلايا في وسط من DMEM المضاف له مصل جنين بقري FBS بنسبة (10%) وصادات حيوية بنسبة (1%) وذلك ضمن حاضنة تؤمن درجة حرارة تصل إلى 37 درجة مئوية وغاز ثنائي أكسيد الكربون بنسبة (5%).

لفترات زمنية متعددة فقد أشارت إلى ظهور السمية الجينية عند التعرض لتراكيز مرتفعة من المركب ولفترة زمنية طويلة الأمد (Alseigini et al., 2014) وهذا ما أثبتته أيضاً دراسة كين وزملائه (Qin et al., 2019) Qin et al.، إضافة إلى التأثيرات المطفرة لهذه الصبغات التي ظهرت بإجراء اختبار Ames test (Zhou et al., 2021)، ومع ذلك فقد أشارت اللجنة العلمية المعنية بسلامة المستهلك Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) عام 2012 إلى أنه لا يوجد ما يثبت التأثير المسرطن لمركب PPD في صبغة الشعر الدائمة وبالتالي فمستحضرات الصبغات الحاوية على PPD لا تشكل خطر على المستهلك (SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), 2012). إن عدم اعتبار النتائج التي تم الحصول عليها من قبل الدراسات التي تمت الإشارة إليها مسبقاً كافية للحكم على سمية صبغات الشعر الحاوية على مركب PPD فتح المجال أمام مزيد من الدراسات للوصول إلى التقييم الحقيقي لهذه الصبغات. ومن هنا توجهت دراستنا ولأول مرة نحو تطبيق تراكيز متدرجة من الجزء الممتص من صبغات الشعر على خلايا بشرية في الزجاج لدراسة أثرها على عيوشية الخلايا ومعرفة الأثر الفعلي للتركيز الممتص منها عبر الجلد.

## المواد والطرائق Material and Methods:

### 1. المواد المستخدمة:

وسط الاستنبات الخلوي Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (مصل الجنين البقري fetal bovine serum (FBS) منزوع المتممة وصادات حيوية من بنسلين وستربتومايسين penicillin/streptomycin، محلول وقاء الفوسفات الخالي من المغنيزيوم والكالسيوم Phosphate-buffered saline (PBS) (شركة بيوسيرا Biosera INC، الفيليبين Philippines) (Philippines)، ومحلول أزرق التريبان Trypan Blue (شركة سيغما Sigma، الولايات المتحدة الأمريكية United State)، (شركة سيغما MTT، (شركة سيغما Sigma، الولايات المتحدة الأمريكية United State)، دي ميتيل

## 4. محاليل الصبغات المستخدمة للمعالجة:

حضرت باستخدام خلية فرانز Franz محلية الصنع (OCDE 428, 2004) للحصول على الجزء الممتص لكل من الصبغات المدروسة، وذلك باستخدام غشاء طبيعي مشتق من جلد جرد wister albino بحيث يكون المحلول المتواجد في حجرة استقبال الخلية هو وسط الاستنبات DMEM.

طبقت كل من صبغات الشعر المدروسة على حدى على الغشاء مدة 45 دقيقة ثم رُشَّح المحلول المستقبل بفلاتر جرثومية (0.2 ميكرون) وجمع في عبوات عقيمة. حضرت بعد ذلك أربع تراكيز من كل صبغة بحيث تضاف كل من الحجم 2.5 و 10 و 25 و 50 مكرو لتر إلى وسط الاستنبات بحيث يكون الحجم النهائي 100 مكرو لتر.

## 5. اختبار عيوشية الخلايا:

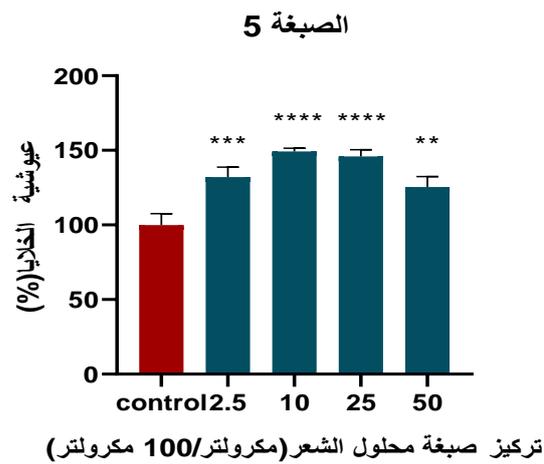
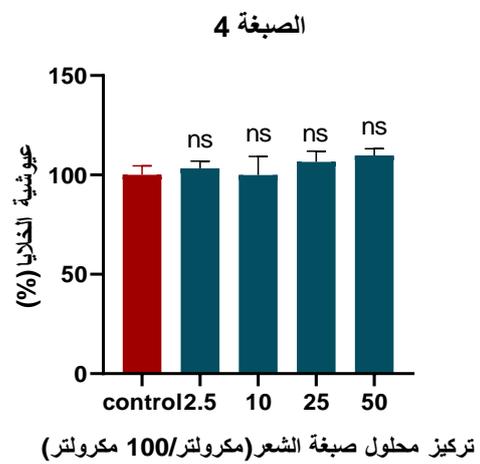
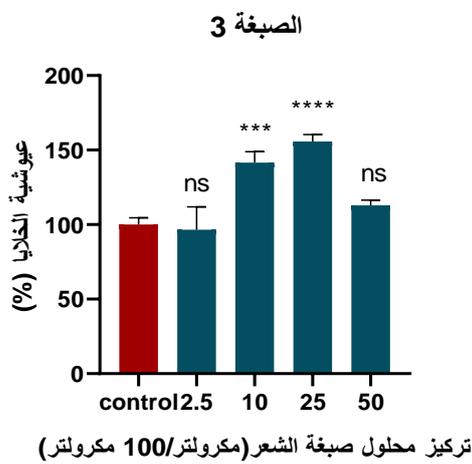
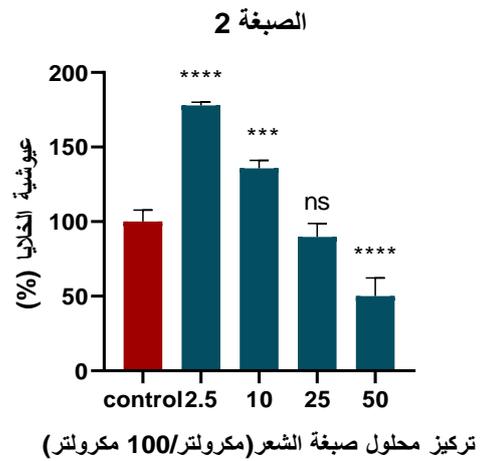
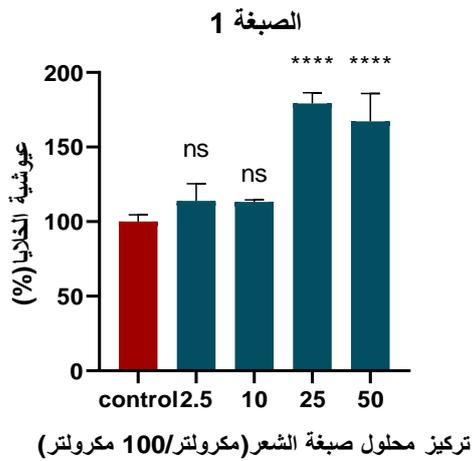
تم قياس عيوشية الخلايا باستخدام اختبار (Negi et MTT al., 2017) والذي يعتمد على قدرة الخلية الحية على تحويل Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide بواسطة أنزيم السوكسينات ديهيدروجيناز succinate dehydrogenase الموجود في المتقدرات إلى بلورات الفورمازون الأرواني غير المنحل بحيث تُحل هذه البلورات بعد ذلك باستخدام مركب DMSO وتقاس شدة اللون الناتج باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجة 540 نانومتر. تم تطبيق الاختبار من خلال زرع حوالي  $15 \times 10^3$  خلية في كل بئر من أبار طبق زرع يحوي 96 بئراً، ووضعها ضمن حاضنة  $CO_2$  عند الدرجة 37 درجة مئوية مدة 24 ساعة ثم تطبيق المعالجة من خلال إضافة الأربعة تراكيز من محاليل الصبغات المحضرة مسبقاً على الخلايا المزروعة وحضنها مع الخلايا غير المعالجة (الشاهدة) مدة 24 ساعة، ثم إضافة 15 مكرو لتر من محلول MTT إلى كل بئر وحضنها مرة أخرى مدة 4 ساعات ثم حل بلورات الفورمازون المتشكلة بمحلول DMSO وقراءة النتائج عند طول موجة 540 نانومتر.

## الدراسة الإحصائية Statistical study :

تم التعبير عن النتائج باستخدام المتوسطات  $\pm$  الانحراف المعياري Standard deviation (SD)، ودرست الفروق المعنوية بين أكثر من مجموعتين باستخدام one way ANOVA وذلك عند مستوى دلالة  $P > 0.05$ . كما دُرست علاقة الارتباط باستخدام اختبار Person r وذلك بالاستعانة ببرنامج التحليل الإحصائي GraphPad الإصدار 8.0.

## النتائج:

أظهرت جميع بيانات نسبة العيوشية توزعاً طبيعياً حسب اختبار Shapiro-Wilk test، وبحساب نسبة العيوشية للخلايا المعالجة نجد أن جميعها قد أدت إلى زيادة في مستوى العيوشية بالمقارنة مع الشاهد، وتطبيق اختبار One way ANOVA لدراسة معنوية هذه الفروق نجد أن جميع الصبغات باستثناء الصبغة 4 قد أدت إلى زيادة جوهرية في مستوى العيوشية حيث كانت قيمة  $P \text{ value} > 0.0001$ . أما الصبغة 4 فكانت قيمة  $P \text{ value} = 0.2$  أي أنها أكبر من مستوى الدلالة 0.05 بالتالي نرفض الفرضية البديلة ونقبل بأن الزيادة في عيوشية الخلايا التي سببتها إضافة هذه الصبغة ليست ذات فارق يعتد به إحصائياً بالمقارنة مع الشاهد. كما لوحظ بأنه في الصبغات 1 و 3 و 5 حدث تزايد تدريجي في نسبة العيوشية بلغ ذروته في التركيز 10 مكرو لتر / 100 مكرو لتر في الصبغة 5 في حين بلغ ذروته عند التركيز 25 مكرو لتر / 100 مكرو لتر في الصبغة 1 و 3 ، أما الصبغة 2 فقد أظهرت أعلى قيمة للعيوشية لها عند التركيز 2.5 مكرو لتر / 100 مكرو لتر، تلا ذلك تناقص تدريجي أيضاً في مستوى العيوشية كما يظهر في الشكل (3)



الشكل (3): مخططات تمثل عويشية الخلايا بعد معالجتها بأربع تراكيز من كل من الصبغات المدروسة

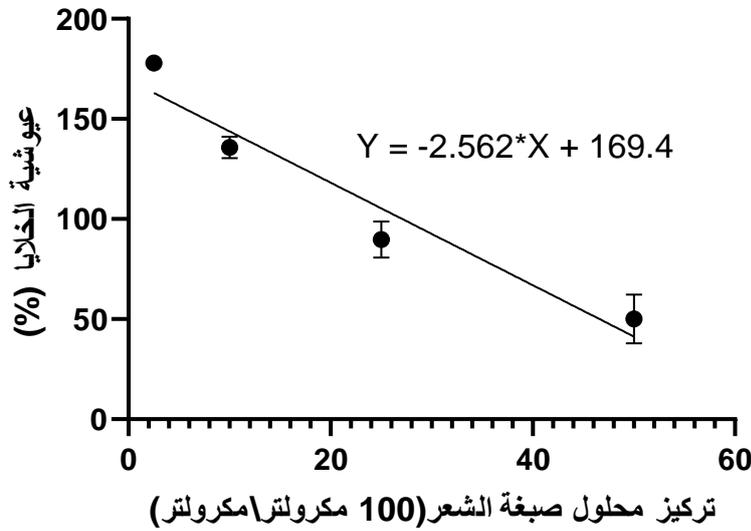
\*\*\*\* p < 0.0001, \*\*\* p < 0.001, \*\* p < 0.01, \* p < 0.05, ns: non significant

وبالنظر إلى أعلى مستوى بالعيوشية كما يظهر في الجدول (2) نجد أنه في الصبغتين 1 و2 كان متقارب إلى حد كبير إلا أنه في الصبغة 1 كان عند التركيز 25 مكرو لتر /100 مكرو لتر، في حين أنه في الصبغة 2 كان عند التركيز 2.5 مكرو لتر /100 مكرو لتر. الصبغتين 1 و3 أعطتا أعلى نسبة عيوشية عند نفس التركيز 25 مكرو لتر /100 مكرو لتر، لكن

الجدول(2): التركيز الموافق لأعلى مستوى عيوشية للخلايا بعد المعالجة بالصبغات

الصبغة	التركيز (مكرو لتر/100مكرو لتر)	عيوشية الخلايا(%)
1	25	179.2
2	2.5	178
3	25	155.7
4	50	109.9
5	10	149

وبدراسة علاقة الارتباط بين التركيز ومستوى العيوشية بحسب اختبار Person r نجد أن الصبغة 2 فقط قد أبدت علاقة ارتباط عكسية قوية بلغت  $r=-0.966$  وكانت العلاقة خطية أي



الشكل (4): علاقة ارتباط تراكم الصبغة 2 مع عيوشية الخلايا المعالجة

أعلى مستوى للعيوشية بأقل تركيز بالنسبة للصبغة 2 يدل على أن هذه الصبغة هي الأكثر قدرة على تحريض الخلايا بين الصبغات المدروسة، وبمقارنة الصبغتين 1 و3 اللتان أعطتا أعلى نسبة عيوشية عند نفس التركيز نجد أن الصبغة 1 أشد تأثير من الصبغة 3 بالنظر إلى مستوى العيوشية الخلوية التي

## المناقشة:

إن الزيادة في مستوى العيوشية التي سببتها الصبغات 1 و2 و3 و5 ناتجة عن قدرة هذه الصبغات على تحريض النمو الشاذ للخلايا مقارنة مع النمو الطبيعي للشاهد. وإن ظهور

خلال التطبيق على خطوط خلايا أخرى خلُصت إلى أن للصبغات تأثير سام على الخلايا كالتأثير الذي سببته التراكيز العليا التي أدت إلى نمو أقل من الشاهد في هذه الدراسة، وهذا يوافق ما توصل إليه جي يونغ وزملائه *Jae-Young et al.* على الخطوط الخلوية HDF و *فينكاتيسان* وزملاؤه *Venkatesan et al.* على خلايا HaCaT و *مايتي* وزملاؤه *Maiti et al.* على اللمفاويات المعزولة (*Oh et al., 2019*). *(Venkatesan et al., 2021)* *(Maiti et al., 2016)*. بالتالي فإن تطبيق تراكيز أقل بكثير من التراكيز الممتصة كما في هذه الدراسة أسهمت في ظهور التأثير الحقيقي للصبغات على الخلايا الثديية خاصة وأن وصول الصبغة للدم ودورانها بكل أنحاء الجسم تعني اختلاف الكمية الواصلة منها لكل عضو. بالنظر لتكوين الصبغات المدروسة نجد أن الصبغة 1 احتوت على مركب 2- أمينو-6- كلورو-4- نيتروفينول كعامل رابط والتي تم إثبات التأثير المطفر له في الدراسة التي قام بها اندرسين (*Andersen, 1999*) كما أن الريزورسينول الداخل في تركيب هذه الصبغة أيضاً يمكن أن يكون لها دور مساعد على حدوث السرطان كما أشار جونسون (*Johnson, 1986*). بالنسبة للصبغة 2 فقد احتوت على مركب 4- أمينو-2- هيدروكسي تولوين والذي أثبت تأثيره السام للجينات في دراسة سابقة (*Zeller & Pfuher, 2014*) والبارافينيلينول التي أشار سوزا إلى أنه مطفر على سلالة *Salmonella typhimurium YG1041* (*Souza et al., 2021*)، علماً بأن هذان المركبان يتواجدان أيضاً في الصبغة 3 إلا أن احتواءها على مكونات عديدة أخرى لم يثبت لها تأثير على المادة الوراثية للخلايا في دراسات سابقة ساهم بتقليل التركيز المستخدم من كل منها وقلل التأثير المحفز لنمو الخلايا غير الطبيعي الناتج عنها. أما الصبغة 4 فقد احتوت على مركب الميتا أمينو فينول الذي لم يثبت له تأثير على المادة الوراثية في الدراسات السابقة والتي استخدمت كعامل رابط إضافة إلى الريزورسينول مما ساهم بتقليل التركيز المستخدم منه وبالتالي تقليل التأثير المحفز لنمو الخلايا إلى ما دون التأثير الجوهري،

تسببت بها كل منهما، كما أن الصبغة 5 أكثر فعالية من الصبغة 3، إذ أن الفعالية تكون أكبر مع تناقص التركيز. وتبقى الصبغة 4 هي الأكثر مأمونية بين الصبغات المدروسة بالنظر لنسبة العيوشية التي تسببت بها والتي لم تكن ذات دلالة إحصائية.

إن التناقص التدريجي في مستويات العيوشية بالنسبة للتركيز 50 مكرو لتر /100 مكرو لتر من الصبغة 1 والتركيز 10-25 مكرو لتر /100 مكرو لتر من الصبغة 2 والتركيز 50 مكرو لتر /100 مكرو لتر من الصبغة 3 والتركيز 25-50 مكرو لتر /100 مكرو لتر من الصبغة 5 والتي بقيت مستويات العيوشية فيها جميعاً مساوية لمستوى الشاهد أو أعلى منه بعد الوصول إلى أعلى زيادة بالعيوشية في التركيز السابق لها تُفسر بأنه قد حدث زيادة كبيرة في مستويات العيوشية ضمن البئر نتج عنها استهلاك وسط الاستنبات ضمن فترة الحضان المطبقة ما أدى إلى بدء تموت الخلايا. أما بالنسبة للتركيز 50 مكرو لتر /100 مكرو لتر من الصبغة 2 والذي أدى إلى مستوى عيوشية دون الشاهد فهو يمثل جرعة سمية قاتلة للخلايا.

إن عدم وجود علاقة ارتباط بين التركيز ونسبة العيوشية الخلوية في الصبغة 4 يؤكد على مأمونية تركيب هذه الصبغة ضمن التراكيز المدروسة، أما الصبغة 2 التي أبدت تأثير منوط بالتركيز بعلاقة عكسية قوية كما تشير الأرقام أي أن زيادة التركيز تؤدي إلى تناقص العيوشية تُفسر أيضاً بأن نقصان الخلايا ناتج عن تموتها التدريجي بعد تزايد أعدادها بشكل كبير مما يشير إلى أن العلاقة الحقيقية ضمناً هي علاقة طردية بين التركيز والعيوشية. أما باقي الصبغات والتي لم تظهر علاقة ارتباط بينها وبين العيوشية فيعود ذلك للتموت الذي ظهر فقط في التراكيز العليا المطبقة من الصبغة.

بالمجمل فإن نتائج هذه الدراسة تميل نحو فرضية أن صبغات الشعر المؤكسدة تمثل عامل خطورة للإصابة بالسرطان (*Lin et al., 2021*) *(Gago-dominguez et al., 2003)* في حين أن الدراسات التي قامت بالتحري عن أثر الصبغات سواء أكانت هذه الصبغات حاوية على مركب PPD أو TDA من

**الاستنتاج:**

يمكن للعديد من صبغ الصبغات الحاوية على مركب البارافينيلين ثنائي الأمين تحفيز النمو الخلوي إلى مستويات أعلى من الطبيعي في الزجاج، مما يوجّه نحو إمكانية أن يكون لها تأثير محفز لتشكيل الأورام. كما أن لتركيب الصبغة دور رئيسي في تحديد شدة التأثير على الخلايا، فزيادة المكونات المشكّلة للصبغة يمكن أن يكون لها دور في تقليل التأثير المحفز للخلايا لهذه الصبغة ما لم يكن لهذه المكونات تأثير سلبي مثبت على المادة الوراثية للخلية.

وإن إضافة مركب البارافينيلين للصبغة 4 أدى لتشكيل الصبغة 5 وساهم بظهور تأثير معنوي لهذه الصبغة على نمو الخلايا. بالتالي فإن التأثير الآمن الذي أبدته الصبغة 4 على خلايا الخط الخلوي مقارنة مع الصبغات الأخرى يعود إلى استعمال مركبات آمنة بذاتها والتي تساهم باستعمال تراكيز قليلة من المركبات التي من المحتمل ظهور تأثير ضار لها بزيادة التركيز المستخدم منها، وهذا يمهد الطريق لمعرفة الأسس التي تساهم بالحصول على منتج آمن لتجنب التأثيرات الضائرة التي يسببها الاستخدام المتكرر لصبغات الشعر.

**التمويل :** هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

## References:

- Alexandra, T., & Vogel, T. A. (2016). *The Dark Side of p -Phenylenediamine Biological aspects and prevalence of contact allergy to an extraordinary molecule* (K. M. V. Tatiana A. Vogel1, Pieter-Jan Coenraads1, Laura M. Bijkersma1 & and M.-L. A. S. on behalf of the E. F. S. Group (eds.); 1st ed.). Contact Dermatitis.
- Alseigini, A., Elsayed, A., Elhelaly, H., & Abdelhakim, E. (2014). *Assessment of DNA Damage on Adult Albino Rats Induced by Dermal Exposure to P-Phenylenediamine (PPD)*. July, 173–181.
- Andersen, F. A. (1999). Final report on the safety assessment of Azulene. *International Journal of Toxicology*, 18(SUPPL. 3), 27–32. <https://doi.org/10.1177/109158189901800304>
- Aparecida, S., Dario, M. F., Esteves, V. B., Baby, A. R., Valéria, M., & Velasco, R. (2015). *Types of Hair Dye and Their Mechanisms of Action*. 110–126. <https://doi.org/10.3390/cosmetics2020110>
- Bessegato, G. G., De Souza, J. C., Cardoso, J. C., & Zanoni, M. V. B. (2018). Assessment of several advanced oxidation processes applied in the treatment of environmental concern constituents from a real hair dye wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 2794–2802. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.04.041>
- Chen, S. C., Chen, C. H., Tioh, Y. L., Zhong, P. Y., Lin, Y. S., & Chye, S. M. (2010). Paraphenylenediamine induced DNA damage and apoptosis through oxidative stress and enhanced caspase-8 and -9 activities in Mardin-Darby canine kidney cells. *Toxicology in Vitro*, 24(4), 1197–1202. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.02.011>
- Corbett, J. F. (1999). An historical review of the use of dye precursors in the formulation of commercial oxidation hair dyes. *Dyes and Pigments*, 41(1–2), 127–136. [https://doi.org/10.1016/s0143-7208\(98\)00075-8](https://doi.org/10.1016/s0143-7208(98)00075-8)
- Gago-dominguez, M., Bell, D. A., Watson, M. A., Yuan, J., Castelao, J. E., Hein, D. W., Chan, K. K., Coetzee, G. A., Ross, R. K., & Yu, M. C. (2003). *Permanent hair dyes and bladder cancer : risk modification by cytochrome P4501A2 and N- acetyltransferases 1 and 2*. 24(3), 483–489.
- Johnson, E. M. (1986). The scientific basis for multigeneration safety evaluations. *Journal of the American College of Toxicology*, 5(4), 197–201.
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2016). The use of personal hair dye and its implications for human health. *Environment International*, 89–90, 222–227. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.01.018>
- Lee, J. K., Lee, H. E., Yang, G., Kim, K. B., Kwack, S. J., & Lee, J. Y. (2020). Paraphenylenediamine, an oxidative hair dye ingredient, increases thymic stromal lymphopoietin and proinflammatory cytokines causing acute dermatitis. *Toxicological Research*, 36(4), 329–336. <https://doi.org/10.1007/s43188-020-00041-6>
- Lin, Y., Rao, R., Mcdonald, J. A., Barrett, E. S., Greenberg, P., & Tete, D. K. (2021). Associations of hair dye and relaxer use with breast tumor clinicopathologic features : Findings from the Women ' s circle of Health Study Environmental Research Associations of hair dye and relaxer use with breast tumor clinicopathologic features : Findi. *Environmental Research*, 203(September), 111863. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111863>
- Maiti, S., Sasmal, K., Sinha, S. S., & Singh, M. (2016). Analysis of cytotoxicity and genotoxicity on E. coli, human blood cells and Allium cepa suggests a greater toxic potential of hair dye. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 124, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.10.028>
- Meyer, A., & Fischer, K. (2015). Oxidative transformation processes and products of paraphenylenediamine (PPD) and para-toluenediamine (PTD)—a review. *Environmental Sciences Europe*, 27(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0044-7>
- Mishra, V., Sharma, U., Rawat, D., Benson, D., Singh, M., & Sharma, R. S. (2020). Fast-changing life-styles and ecotoxicity of hair dyes drive the emergence of hidden toxicants threatening environmental sustainability in Asia. *Environmental Research*, 184(February), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109253>
- Negi, C. K., Pharm, M. S., & Toxicology, R. (2017). *MTT cell proliferation assay MTT assay*. 44(8028), 1–2.

17. Nohynek, G. J., Dufour, E. K., Meuling, W. J. A., Toutain, H., & Bolt, H. M. (2007). *Occupational exposure of hairdressers to [ C ] - para -phenylenediamine-containing oxidative hair dyes : A mass balance study. c*, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.08.002>
18. OCDE 428. (2004). OECD - GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS: Skin Absorption: in vitro Method. *Test, April*, 1–8.
19. Oh, J. Y., Ryu, B. M., Yang, H. W., Kim, E. A., Lee, J. S., & Jeon, Y. J. (2019). Protective effects of Ecklonia cava extract on the toxicity and oxidative stress induced by hair dye in in-vitro and in-vivo models. *Journal of Oceanology and Limnology*, 37(3), 909–917. <https://doi.org/10.1007/s00343-019-8148-3>
20. Panfili, E., Esposito, S., & Cara, G. Di. (2017). *Temporary Black Henna Tattoos and Sensitization to para -Phenylenediamine ( PPD ) : Two Paediatric Case Reports and a Review of the Literature*. 1–8. <https://doi.org/10.3390/ijerph14040421>
21. Qin, M., Chen, R., Huang, Z., Wang, J., Xu, S., Jiang, R., Li, J., Xian, J., Wang, X., Lu, Y., Xu, L., Chen, N., Chen, X., Wang, P., & Wang, T. (2019). Application of the in vivo Pig-a gene mutation assay to test the potential genotoxicity of p-phenylenediamine. *Food and Chemical Toxicology*, 123, 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.061>
22. SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety). (2012). *Opinion on p-phenylenediamine. March*.
23. Venkatesan, G., Dancik, Y., Sinha, A., Kyaw, H. M., Srinivas, R., Dawson, T. L., Bigliardi, M., Bigliardi, P., & Pastorin, G. (2021). Development of novel alternative hair dyes to hazardous para-phenylenediamine. *Journal of Hazardous Materials*, 402. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123712>
24. Vogel, T. A., Heijnen, R. W., Coenraads, P. J., & Schuttelaar, M. L. A. (2017). Two decades of p-phenylenediamine and toluene-2,5-diamine patch testing – focus on co-sensitizations in the European baseline series and cross-reactions with chemically related substances. *Contact Dermatitis*, 76(2), 81–88. <https://doi.org/10.1111/cod.12619>
25. Zaroni, T. B., Hudari, F., Munnia, A., Peluso, M., Godschalk, R. W., Zaroni, M. V. B., den Hartog, G. J. M., Bast, A., Barros, S. B. M., Maria-Engler, S. S., Hageman, G. J., & de Oliveira, D. P. (2015). The oxidation of p-phenylenediamine, an ingredient used for permanent hair dyeing purposes, leads to the formation of hydroxyl radicals: Oxidative stress and DNA damage in human immortalized keratinocytes. *Toxicology Letters*, 239(3), 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.09.026>
26. Zeller, A., & Pfuhler, S. (2014). N-acetylation of three aromatic amine hair dye precursor molecules eliminates their genotoxic potential. *Mutagenesis*, 29(1), 37–48. <https://doi.org/10.1093/mutage/get053>
27. Zhou, S., Li, R., Zhang, Z., Gu, M., Zhu, H., Fang, J., Ji, Z., Xu, X., & Tang, L. (2021). Analysis of mutagenic components of oxidative hair dyes with the Ames test. *Human and Experimental Toxicology*. <https://doi.org/10.1177/09603271211013433>

