

دراسة السمية الخلوية والوراثية لمستخلص نبات الجوز *juglans spp*

عايدة ممدوح*، مائدة حسين محمد*، احمد مجيد الشمري*

*المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية/ الجامعة المستنصرية

الخلاصة:

تم دراسة تأثير السمية الخلوية للمستخلص المائي لنبات الجوز *juglans spp* على الخط السرطاني (AMGM) Human Glioblastoma والخط الطبيعي Rat Embryo Fibroblast (REF) خلال فترتي التعريض (48 و 72 ساعة، كما تم دراسة تأثير المستخلص الخام في معامل انقسام الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي قبل وبعد المعاملة بالمستخلص. اظهرت نتائج السمية الخلوية وجود فروقات معنوية للتركيز المستخدم مقارنة بمعاملة السيطرة (39.1 مايكروغرام / مل) مع عدم وجود فروقات معنوية بين التركيزات المستخدمة ذاتها وخلال 72 ساعة من تعريض الخلايا السرطانية مقارنة بالخط الطبيعي REF والذي لم يظهر فروقات معنوية ولجميع التركيزات المستخدمة. اما نتائج معامل الانقسام للخط السرطاني فقد اظهرت وجود فروقات معنوية للتركيز المستخدمة (312.5، 156.2، 78.1 و 39.1 مايكروغرام/ مل) مقارنة بمعاملة السيطرة.

المقدمة:

اجريت هذه الدراسة في مختبرات المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية Iraqi center of cancer and medical genetic research ICCMGR (2008-) خلال فترة (2010).

الاستخلاص (extraction):

تم استخدام الجوز المأخوذ من الاسواق العراقية في الدراسة والمأخوذ من مصادر محلية حيث تم اخذ 100 غم من لب ثمرة الجوز ووضعت في بيكر بحجم 500 مل من الماء المقطر distilled water وسخن على درجة حرارة 40م° ثم وضع في جهاز الهزاز المغناطيسي hotplate magnetic sterrier بدرجة 40م° لمدة 24 ساعة، بعدها رشح المستخلص باستخدام جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق وبسرعة 2500 دورة بالدقيقة.

بعدها اخذ العالق وشرح باستخدام ورق ترشيح (wahatman NO.1) ثم وضع في الحاضنة (37م°) لغرض تجفيفه. اذيب 1 غم من المستخلص المائي الجاف بـ 100 مل من وسط غذائي خالي من المصل serum free media (SFM) والذي استخدم في التجارب اللاحقة (8,9).

تعد شجرة نبات الجوز *Juglans spp* احد اهم اشجار المكسرات فهي اشجار مثمرة يستعمل لب ثمارها كفاكهة من المكسرات. حيث تنتمي الى العائلة الجوزية suglandaceae. اما الأسماء الشائعة للنبات فهو الجوز walnts, silvesd.vutre, nuezemca, nogaltocte كما يزرع في مناطق مختلفة من العالم (2و1).

تعد ثمار الجوز غنية بالدهون الاساسية مثل اوميكا 3-3 fatty acid omega وحامض اللينويك α اللذان يعملان على تقليل من نسبة الكوليسترول من خلال رفع نسبة الكوليسترول الجيد بالتالي التقليل من احتمالية الاصابة بتصلب الشرايين وامراض القلب، كما يحوي ايضا على حامض اللاجيك ellagic acid وهو من مجموعة مضادات الاكسدة التي تستخدم معدن السيلينيوم الموجود بنسبه كبيره في بعض المكسرات منها الجوز الذي يقلل من مخاطر الاصابة بالامراض السرطانية تصل الى 76% (4، 5).

كما تحتوي ثمرة الجوز على البروتينات الخضراء التي تغلف الجوزة من الخارج على نسبة عالية والاملاح المعدنية (كالبوتاسيوم، البوتاسيوم، والفسفور) والفيتامينات منها b.c. كما وتحتوي القشرة اللبية الخضراء التي تغلف الجوزة من الخارج (على نسبة عالية من الاحماض والمعادن (1). وايضا فان للمركبات الفعالة الموجودة في اوراقه مثل التانينات، tannius والفينولات phenolics قد استخدمت في علاج ارتفاع سكر الدم في اوربا (6) والشرق الاوسط (7).

ان الهدف من الدراسة الحالية هو دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الجوز *Juglans spp* على الخط السرطاني AMGM، دراسة تأثيره على معامل انقسام الخلايا السرطانية ودراسة معامل الانقسام لتلك الخلايا قبل وبعد المعاملة.

Corresponding Address:

Ayeda M. Majeed

Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research/
AL-Mustansiriyah University

Email: Abeda_flower@yahoo.com

before and after treatment with extract

اجري هذا الاختبار للخط الخلوي السرطاني AMG. استخدمت اربعة تراكيز هي (312.5، 156.2، 78.1 و 39.1 مايكروغرام/مل) على التوالي وكما يأتي:

Incubation and Harvesting

الحض والحصاد أضيفت كل من التراكيز المستخدمة إلى قناني الزرع النسيجي الحاوية على الخلايا ولنفس التمريرة وإضافة إلى قنينة السيطرة، أعيدت القناني إلى الحاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة ساعة .

ثم اضيفت مادة الكولسيميد (Colcemid (Serva-Germany بمقدار مليلتر للقنينة الواحدة ، وأعيدت القناني إلى الحاضنة وتركت لمدة 20 دقيقة، وبعدها أفرغت القنينة من الوسط ألزري ثم أضيف التريسين/ فرسين لمدة 2 دقيقة ومن ثم أعيد الوسط ألزري السابق إلى القنينة مع المزج الجيد للخلايا المتفككة وبعدها نقلت تلك الخلايا المفككة إلى أنابيب زجاجية نظيفة. نبذت الخلايا بجهاز النبذ المركزي بسرعة 1500 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق ، ثم أزيل الرائق ومن ثم تم تعليق الأنبوبة مع الرج المستمر بمحلول واطئ التركيز من كلوريد الكالسيوم 0.075 مولاري بمقدار 15 مللتر، ووضعت بعد ذلك في حمام مائي بدرجة حرارة 37°م لمدة 40 دقيقة ، بعدها نقلت الأنبوبة إلى جهاز النبذ المركزي على سرعة 1500 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق.

بعدها ثبتت الخلايا باستخدام المحلول المثبت والمحضر أنياً (ايثانول المطلق وحامض الخليك الثلجي بنسبة 1 : 3) قطرة قطرة مع الرج المستمر لحد 5 مليلتر ، بعدها ترك العالق الخلوي لمدة 30 دقيقة في درجة 4°م، ثم أعيدت عملية النبذ المركزي على سرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق مرتان مع تبديل المثبت ثلاث مرات ، وفي المرة الثالثة أعيد تعليق الخلايا مع 3 مليلتر من المثبت وخزن في درجة حرارة -20°م على الأقل ساعتين قبل تحضير الشريحة الزجاجية.

التقطير وتصبيغ الشرائح **Dropping and slide Staining**: حضرت شرائح زجاجية نظيفة، رطبة وبارده ثم رج الراسب المحضر بالخطوة السابقة جيداً باستعمال ماصه باستور نظيفة وجافة، بعدها تم تقطير العالق على الشرائح الزجاجية بمعدل (4-5) قطرات/شريحة وعلى بعد (-30 50) سم وتركت لتجف في الهواء. صبغت الشريحة المحضرة بالخطوات السابقة بواسطة صبغة كمزا (BDH. England, Giemsa stain) إذ غطت الشريحة بالصبغة لمدة دقيقتين ثم غسلت بمحلول سورنسن Sorenson's buffer وتركت الشريحة لتجف في الهواء. بعدها فحصت الشريحة جيداً بواسطة المجهر الضوئي تحت قوة تكبير (100X) لغرض عد الكروموسومات وملاحظة الفروقات العددية إن وجدت بين الخلايا المعاملة بالمستخلصات الخام والسيطرة (12)، وتم حساب دليل الانقسام الخلوي للخلايا السرطانية في طور الاستوائي Metaphase وفق طريقة (13)، وذلك بتقسيم الخلايا المنقسمة على العدد الكلي للخلايا (1000 خلية) وفقاً للمعادلة التالية: دليل الانقسام MI = عدد الخلايا المنقسمة / عدد الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة (1000 خلية) X 100 .

Statistical Analysis

التحليل الاحصائي في تجربة اختبار تأثير المستخلص المائي لنبات الجوز تم استخدام الحقيبة الاحصائية للعلوم الاجتماعية SPSS Statistica Package (Social Sciences V(II بتطبيق التباين احادي الاتجاه (ANOVA) باستخدام اختبار اقل فرق معنوي (LSD)) بمستوى احتمالية (P ≤ 0.05).

خط خلايا الـ (Glioblastoma (AMGM))

هو خط ahmed majeed glioblastoma multiform cell line. استخدم هذا الخط في التمريره رقم 52 من المركز العراقي لبحوث السرطان و الوراثة الطبية ولقد استحدث هذا الخط الخلوي السرطاني من قبل الباحث الشمرى (3).

وهي خلايا glioblastoma tumor muscles مأخوذة من انسجه دماغ بشريه human brain حيث نمي هذا الخط على وسط-RPMI (sigma (Rosswel Park Memorial Institute) 1640 (chemicals), وعند تكون الطبقة الاحادية كاملة (confluent Monolayer) تمت معاملة الخلايا بمحلول التريسين / فرسين (trypsin / versine) لتهينة المزرعة الثانوية (subculture).

خط الخلايا (Rat Embryo Fibroblast (REF))

هي خلايا طبيعية لجنين الفأر المحلي. استخدم هذا الخط في التمريرة رقم 37 من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية، والمستحدث من قبل الباحث الشمرى (3) اذ نمي هذا الخط على وسط Chemicals (RPMI-1640 sigma) وعند تكون الطبقة الاحادية كاملة (confluent Monolayer) تمت معاملة الخلايا بمحلول التريسين / فرسين (trypsin / versine) لتهينة المزرعة الثانوية (subculture).

الكشف الكيميائي الاستدلالي عن المركبات الفعالة Reagent for Chemical test

لغرض تحديد نوعية المركبات الثانوية الموجودة في النبات تمت معاملة المستخلص المائي لنبات الجوز *Juglans spp* بمجموعة الكواشف الاتية (10):

1. الكشف عن الفلويديات Alkaloids : وتشمل كاشف ماير Mayer's reagent
2. الكشف عن الفينولات (التانينات Tannins – فلافينويدات Flavonoids) وتشمل (كاشف Fe Cl3 وكاشف K OH) .
3. الكشف عن التربينات Terpenoids – السابونيات saponins وتشمل كاشف الرغوة وكاشف Hg Cl2.

Cytotoxicity assay

أختبار السمية الخلوية تم الحصول على عالقة الخلايا السرطانية والطبيعية بمعاملة وعاء الزرع الحاوي على خلايا كثيفة النمو بمادة التريسين/ فرسين وإضافة 15 مل RPMI بعدما تم توزيع العالق على اطباق المعايرة للمعايرة للزرع النسيجي متعددة الحفر (96 حفرة) مسطحة القعر (0.2 مل من العالق لكل حفرة) ووضعت في الحاضنة 37°م لمدة 24 ساعة لكي تتكون الطبقة الاحادية من الخلايا (8).

حضر 9 تراكيز من المستخلص المائي و 3 مكررات بدءاً بالتركيز 10000 مايكرو غرام / مل وانتهاء بالتركيز 39.1 مايكروغرام / مل وبطريقة التخفيف العشرية (10000 ، 5000 ، 2500 ، 1250 ، 625 ، 312.5 ، 156.25 ، 78.125 ، 39.0625 مايكروغرام / مل واجريت التخفيف بوسط زرعي خالي من المصل Serum Free Media (11).

بعد اكتمال الطبقة الاحادية من الخلايا يسكب بقايا الوسط الزرعي ويضاف 0.2 مل من التراكيز المحضرة سابقا الى كل حفرة تحضن الخلايا في درجة 37°م خلال 48 و 72 ساعة من وقت التعريض Exposure time. بعد انتهاء وقت التعريض عوملت الخلايا بصبغة البنفسج البلوري Crystal Violate لمدة 20 دقيقة بعدها تم غسل الصبغة بالماء العادي بعدما تمت قراءة النتيجة باستخدام جهاز ELISA reader بطول موجي 492 نانوميتر (11).

دراسة وراثية خلوية قبل وبعد المعاملة بالمستخلص *Cytogenetic study*

النتائج:

اظهرت النتائج من خلال اجراء الكشوفات الكيميائية احتواء مستخلص الجوز على القلويدات والفينولات والسايوتينينات وكما يأتي (جدول رقم 1):

الكشف الكيميائي الاستدلالي للمركبات الفعالة:

جدول رقم (1): الكشف الكيميائي الاستدلالي لمستخلص نبات الجوز.

المجموعة الكيميائية	المدرسة	النتيجة
القلويدات	كاشف ماير	+
فينولات	تانيينات / $FeCl_3$	+
	الفلافينولات / KOH	+
التربينات	السايوتينينات	+
	$HgCl_2$	-

(+): تدل على ايجابية الكشف

(-): تدل على سلبية الكشف

حيث بلغت أعلى نسبة لتثبيط الخلايا للتركيز 312.5 مايكروغرام / مل مع عدم وجود فروقات معنوية بمستوى معنوية ($P \leq 0.05$) ما بين التراكيز ذاتها قيد الدراسة وخلال 48 ساعة الاولى من التعريض. وقد ازدادت معدلات تثبيط الخلايا بعد 72 ساعة من التعريض حيث بلغ أعلى نسبة تثبيط الخلايا هو 71 % للتركيز 10000 مايكروغرام / مل حيث اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية بمستوى معنوية ($P \leq 0.05$) بين التراكيز قيد الدراسة ولتركيز 10000 - 39.1 مايكروغرام / مل والتي بلغت (0.06، 0.08، 0.07، 0.08، 0.1، 0.09، 0.07، 0.09) مقارنة بمعامل السيطرة (0.22) (جدول رقم 2).

دراسة السمية الخلوية:
تم دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات الجوز *Juglans spp* على كل من الخط السرطاني AMGM والخط الطبيعي REF باستخدام التراكيز (10000 ، 5000 ، 2500 ، 1250 ، 625 ، 312.5 ، 156.25 ، 78.125 ، 39.0625 مايكروغرام / مل) ولفترات تعريض (48 و 72 ساعة).
• الخط السرطاني AMGM:
اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية بمستوى معنوية ($P \leq 0.05$) ما بين التراكيز قيد الدراسة وابتداءً من تركيز 10000 - 39.1 مايكروغرام / مل والتي بلغت معدلات (0.06، 0.06، 0.08، 0.06، 0.06 ، 0.06 ، 0.06 ، 0.07) مقارنة بمعاملة السيطرة 0.11 ،

جدول (2): الكثافة الضوئية *Optical Density* لخلايا AMGM بعد 48 و 72 ساعة من تعريض الخلايا للمستخلص

Concentration ($\mu g / ml$)	Exposure Time (hrs.)	
	48 (mean $\pm$ SE)	72
Control	0.107 $\pm$ 0.034	0.216 $\pm$ 0.0306
39.1	0.064* $\pm$ 0.0025	0.0725* $\pm$ 0.005
78.1	0.075 $\pm$ 0.008	0.087* $\pm$ 0.017
156.2	0.0592* $\pm$ 0.0016	0.071* $\pm$ 0.0092
312.5	0.0592* $\pm$ 0.0016	0.087* $\pm$ 0.017
625	0.0592* $\pm$ 0.0016	0.0963* $\pm$ 0.0168
1250	0.0592* $\pm$ 0.0016	0.086* $\pm$ 0.00603
2500	0.083* $\pm$ 0.022	0.0725* $\pm$ 0.00482
5000	0.0592* $\pm$ 0.0016	0.079* $\pm$ 0.0111
10000	0.064* $\pm$ 0.0025	0.063* $\pm$ 0.063

* تعني وجود فرق معنوي بمستوى معنوية 0.05 مقارنة بمعاملة السيطرة .

- الخط الطبيعي REF: (0.05) مابين التراكيز قيد الدراسة مقارنة بمعاملة السيطرة وخلال اظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بمستوى معنوية ($P \leq$) فترتي التعريض (جدول رقم 3).

جدول (3) : الكثافة الضوئية *Optical Density* لخلايا REF بعد 48 و 72 ساعة من تعريض الخلايا للمستخلص

Concentration ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	Exposure Time (hrs.)	
	48 (mean $\pm$ SE)	72
Control	0.102 $\pm$ 0.0315	0.048 $\pm$ 0.00353
39.1	0.070 $\pm$ 0.00306	0.045 $\pm$ 0.00120
78.1	0.070 $\pm$ 0.0147	0.045 $\pm$ 0.0020
156.2	0.072 $\pm$ 0.0147	0.043 $\pm$ 0.00171
312.5	0.081 $\pm$ 0.00651	0.049 $\pm$ 0.000577
625	0.060 $\pm$ 0.00233	0.036 $\pm$ 0.00755
1250	0.076 $\pm$ 0.0107	0.042 $\pm$ 0.139
2500	0.073 $\pm$ 0.0078	0.043 $\pm$ 0.00171
5000	0.094 $\pm$ 0.00348	0.042 $\pm$ 0.00300
10000	0.074 $\pm$ 0.00233	0.048 $\pm$ 0.00379

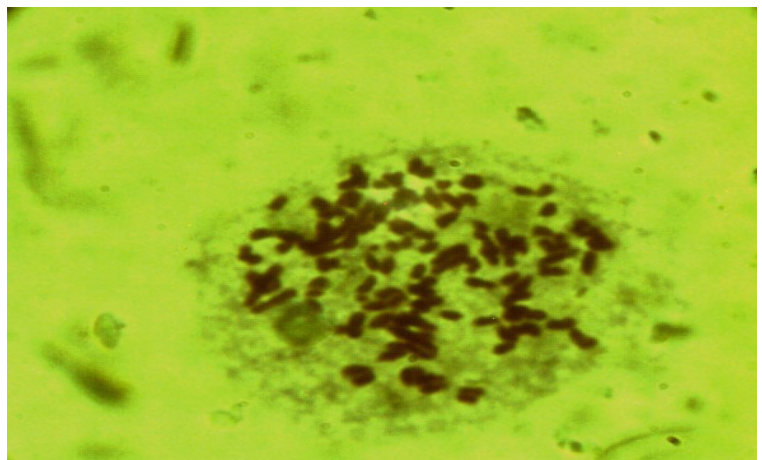
* تعني وجود فرق معنوي بمستوى معنوية 0.05 مقارنة بمعاملة السيطرة .

مل بالمقارنة مع معدل معامل الانقسام للسيطرة. ولوحظ وجود تأثير تثبيطي تام لمعامل الانقسام عند التراكيز (156.2، 78.1 و 39.1 مايكروغرام/ مل) اذ لم يتم الحصول على خلايا في الطور الاستوائي عند معاملتها بهذه التراكيز مقارنة بالسيطرة (صورة 1). حيث اظهر المستخلص سمية كبيرة على الخلايا عند استخدامه بالتراكيز (156.2، 78.1 و 39.1 مايكروغرام/ مل) عند فترة حضن 48 ساعة والتي تمثلت بحدوث تثبيط تام لمعامل الانقسام الخلوي، فيما اظهر استخدام التركيز 312.5 مايكروغرام/ مل وجود انخفاض بفرق معنوي عند مقارنته بالسيطرة.

دراسة وراثية خلوية قبل وبعد المعاملة *Cytogenetic study before and after treatment*

تم إجراء التحليل الكروموسومي للخط الخلوي السرطاني AMGM بعد دراسة السمية الخلوية للمقارنة بين الهيئة الكروموسومية لذلك الخط بعد المعاملة بالمستخلص ولاربعة تراكيز هي (312.5، 156.2، 78.1 و 39.1 مايكروغرام/ مل) وتم مقارنتهم مع السيطرة. اذ حسب دليل الانقسام الخلوي (MI) Mitotic index للمستخلص. ويلاحظ من الجدول (4) وجود انخفاض معنوي لمعدل معامل الانقسام لخلايا خط AMGM عند معاملته بالتركيز (312.5) مايكروغرام/

صورة مرقم (1): الهيئة الكروموسومية لمعاملة السيطره لخلايا الخط الخلوي السرطاني AMGM



الجدول (4): دليل الانقسام الخلوي *Mitotic Index MI* لخلايا الخط السرطاني *AMGM* المعاملة بالمستخلص

التركيز	عدد المكررات	معامل الانقسام (المعدل $\pm$ الخطأ القياسي)
السيطرة	3	A 0.76 ± 0.37
312.5	3	B 0.0667 ± 0.033
156.2	3	B 0.0
78.1	3	B 0.0
39.1	3	B 0.0

* تشير الحرف المختلفة الى وجود فروقات معنوية بمستوى احتمالية 0.05 بين معدلات العمود الواحد

المناقشة:

تعد الاختبارات السمية الوراثية الخلوية من اهم الاسس التي يعتمد عليها عندما يسعى الباحثون لمعرفة مدى التأثيرات السمية لمادة ما يراد استخدامها كعلاج تجريبي لتصبح فيما بعد علاجاً مستقبلاً. لذلك استخدمت انظمة عديدة لهذا الغرض، ومنها مزارع الخلايا للمفاوية للانسان خارج الجسم الحي وهو الانموذج الاختياري الذي تم استخدامه في هذه الدراسة.

من خلال النتائج التي تم التوصل اليها تبين مدى كفاءة المستخلص المائي لثمرة الجوز في تثبيط معامل الانقسام، اذ انه ثبت انقسام الخلايا اي قلل اعداد الخلايا في الطور الاستوائي. حيث لوحظ وجود انخفاض بفرق معنوي لمعدل معامل الانقسام للخلايا للمفاوية المعاملة بالمستخلص بتركيز 39.1 مايكروغرام/مل عند المقارنة مع معدل الانقسام للخلايا للمفاوية غير المعاملة (السيطرة)، ولم يتم الحصول على خلايا في الطور الاستوائي عند المعاملة بالتركيز الاعلى من المستخلص (17).

لذلك فان مستخلص الجوز يثبط معامل الانقسام للتركيز المستخدمة مقارنة بمعامل السيطرة او بسبب بعض المكونات الكيميائية لمستخلص الجوز والتي يعتقد انها تداخلت مع آلية الانقسام الخلوي من خلال تأثيرها على الجينات التي تحفز الانقسام الخلوي، او تأثيرها على الجينات المنظمة لدورة الخلية مما ادى الى تثبيط عملية الانقسام وأدى الى ايقافها في مرحلة الـ *metaphase*. وهذا يحتاج الى دراسة تأثير المكونات الكيميائية للمستخلص كل مدة لمعرفة تأثيرها على آلية الانقسام الخلوي لتحديد الميكانيكية التي يعمل بها (18).

من خلال دراسة تأثيرات السمية للمستخلص المائي لنبات الجوز اظهرت النتائج انه عند معاملة الخلايا السرطانية بالمستخلص اظهرت التأثير وباقل التراكيز (لعدم وجود فروقات معنوية ما بين التراكيز المستخدمة) حيث وجد ان هناك تأثير للوقت Time Dependent وليس لتركيز dose Independent مقارنة بمعامل السيطرة . مما يدل على تأثير مستخلص الجوز على الخط السرطاني AMGM حتى باقل التراكيز مما يثبت فعاليته العالية كمضاد للسرطان اذ استخدم المستخلص المائي لعدد من النباتات منها نبات الجوز *Juglans spp* في دراسته السمية الخلوية للخط السرطاني HEP-2 واظهرت النتائج نسبة قتل وصلت الى نسبة 60 % بتركيز (500) مايكروغرام /مل (14) . ان استخدم مركب β HMBBJ- hydroxymethoxybenzobijuglone وهو احدى مركبات نبات الجوز *Juglans mandshorica* كمضاد للسرطان anti cancer على الخط السرطاني Hela قد اظهر عرقلة في دورة الخلية Cell Cycle عند الطور G2 / M والذي ازداد بزيادة التراكيز (15).

كما استخدم المستخلص المائي لنبات الجوز *Juglans regia* في التقليل من سمية بعض العقاقير السرطانية Anti cancer Duges ومنه Cyclophosphamide عندما تم تجربته على فأران مصابة بالسرطان فقلل المستخلص من تأثير سمية هذه العقاقير وتأثيراتها الجانبية (16).

المصادر:

- يحيى ، توفيق الحاج (2003) نبات والطب البديل . الدار العربية للعلوم . بيروت .لبنان
- بينولوب ، او دي (1999) . الكامل في الاعشاب وانباتات الطبية . (مترجم) الدار العربية للعلوم . بيروت . لبنان
- الشمري ، احمد مجيد (2009) . عزل فايروس النيوكاسل المتكيف على الخلايا السرطانية واستعماله في علاج الاورام المغروسة بالتأزر مع العلاج الكيميائي . رسالة دكتوراه . كلية الطب البيطري . جامعة بغداد
- Chudnoff, M. (1989). Tropical timbers of the world. USDA. Forest Service. Ag. Hand Book. N. 607.
- Ahmad, S.; Wahid, M. and Bukhari, A. (1973). Fungistatic action of Juglans. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 3(3):436 – 438.
- Bartram, T. (1995). Encyclopedia of Herbal Medicine. Dorset, UK : Grace Publishers.
- Azaizah, H.; Fulder, S.; Khalil, K. and Said, O. (2003). Ethnobotanical Knowledge of local Arab practitioners in the Middle Eastern region: the status of traditional Arabic medicine. Fitoterapia. 74: 98 – 108.
- Harborne, J. B.; Mabraj, T.J. and Mabraj, N.(1975). Physiology and function of flavonoids. Academic Press, New York, Pp. 970.
- Chadha, Y.R. (1976). The Wealth of India (Raw materials). V.X.SP.W., Pp: 580-585.
- Harborne, J. B. (1984). Photochemical methods, Agide to modern techniques of plant analysis (2nd Edition), London. New York.

11. Kamuhabwa, A.; Nshimo, C. and De-Witte, P. (2000). Cytotoxicity of some medicinal plant extracts used in Tanzania traditional medicine. J.E. Thnopharmacol., 70: 143-149.
12. ISCN. (1995). An international system for human cytogenetic nomenclature. By Felix Mitelman. S. Karger Publishers, Inc. Farmington, CT 06085, USA.
13. Shubber, E.K. and B.M. Al-Allak (1986). Spontaneous chromosomal aberration and SCE in human lymphocytes effect of culture conditions. Nucleus, 22: 92-98.
14. Saad, B.; Dakwar, S.; Said, O.; Abu – Hijleh, G.; Al – Battah, F.; Kmeel, A. and Azaizeh, H. (2006). Evaluation of medicinal plant hepatotoxicity in Co – cultures of hepatocytes and monocytes. CAM. 3(1): 93 – 98.
15. Li, Zhi – Bo; Wang, J.; Jiang, B. O.; Zhang, X.; An, L. and Bao, Y. (2007). Benzobijuglone, a novel cytotoxic compound from *Juglans mandshurica*, induced apoptosis in Hela cervical cancer cells. Phytomedicine. 14(12): 846 – 852.
16. Haque, R.; Bin – Hafeez, B.; Parvez, S.; Pandey, S.; Sayeed, I.; Ali, M. and Raisuddin, S. (2003). Human and Experimental Toxicology, (22)9: 473 – 480.
17. Cozzi, R.; Ricordy, R.; Bartolini, F.; Ramadori, L.; Perticone, P. and Desalvia, R. (1995). Taurine & ellagic acid: Two differently-acting normal antioxidants. Environmental & Molecular Mutagenesis. V.(26), Issue (3): 248-254.
18. Anderson, K. and Teuber (2010). Ellagic acid & Poly phenolics present in walnut kernels in vitro human peripheral blood mononuclear cell proliferation & after cytokine products. Annals of New York Academy of Science. V. 11980: 86- 96.

Cytotoxicity and Cytogenetic Study of Crud Extract of *juglans spp*

Ayeda M. Majeed*, Maeda H. Mohammad*, Ahmed M. Al Shamery*

***Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research/ AL-Mustansiriya University*

Abstract :

The aim of this study was cytotoxic and cytogenetic study of crude extract of *juglans spp* on Human Glioblastoma cell line (AMGM) and normal cell line (REF) before and after treatment on 24 and 48 hrs. of exposure time. The results have showed a significant effect between concentrations started with 39.1 µg/ml compared with control after 72 hrs. of exposure time and with no significant effect on all concentrations compared with control on normal cell line (REF); whereas the results of mitotic index have showed a significant effect for the concentrations (312.578.1 , 156.2 , 39.1 µg/ml compared with control.