Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics

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 تاثير السمية الخلوية للمستخلص المائى لنبات الجوز *juglans spp* على الخط السرطانى Human Glioblastoma (AMGM) والخط الطبيعي Rat Embryo Fibroblast (REF) خلال فترتي التعريض (48 و72) 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 معنويه للتراكيز المستخدمه مقارنة بمعاملة السيطره (39.1 مايكروغرام / مل) مع عدم وجود فروقات معنويه بين التراكيز المستخدمه ذاتها وخلال 72 ساعه من تعريض الخلايا السرطانية مقارنة بالخط الطبيعيREF والذي لم يظهر فروقات معنوية ولجميع التراكيز المستخدمة. اما نتائج معامل الانقسام للخط السرطاني فقد اظهرت وجود فروقات معنوية للتراكيز المستخدمة (312.5، 156.2، 78.1 و39.1 مايكروغرام/ مل) مقارنة بمعاملة السيطرة.

المقدمة:

تعد شجرة نبات الجوز *Juglans spp* احد اهم اشجار المكسرات فهى اشجار مثمره يستعمل لب ثمارها كفاكهه من المكسرات. حيث تنتمى الى العائله الجوزيه suglandaceae. اما الأسماء الشائعه للنبات فهو الجوز walnts, silvesd.vutre, nuezemca, nogaltocte كما يزرع فى مناطق مختلفه من العالم (1و2).

تعد ثمار الجوز غنيه بالدهون الاساسيه مثل اوميكا 3- 3- fatty acid omega وحامض الليونيك α اللذان يعملان على تقليل من نسبة الكلسترول من خلال رفع نسبة الكلسترول الجيد بالتالى التقليل من احتمالية الاصابه بتصلب الشرايين وامراض القلب, كما يحوى ايضا على حامض اللاجيك ellagic acid وهو من مجموعة مضادات الاكسدة التى تستخدم معدن السيلينيوم الموجود بنسبه كبيره فى بعض المكسرات منها الجوز الذى يقلل من مخاطر الاصابه بالامراض السرطانيه تصل الى 76% (4، 5).

كما تحتوى ثمرة الجوز على البرويتنات الخضراء التى تغلف الجوزه من الخارج على نسبه عاليه والاملاح المعدنية (كالسيوم، البوتاسيوم, والفسفور) والفيتامينات منها bوc. كما وتحتوى القشره اللبيه الخضراء التي تغلف الجوزة من الخارج (على نسبة عالية من الاحماض واالمعادن (1). وايضا فان للمركبات الفعاله الموجوده فى اوراقه مثل التانينات، tannius والفينولات phenolics قد استخدمت فى علاج ارتفاع سكر الدم فى اوربا (6) والشرق الاوسط (7).

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

المواد وطرائق العمل:

اجريت هذه الدراسه في مختبرات المركز العراقى لبحوث السرطان والوراثه الطبيه Iraqi center of cancer and medical genetic research ICCMGR الجامعة المستنصرية خلال فترة (2008-2010).

الاستخلاص *(extraction)* :

تم استخدام الجوز المأخوذ من الاسواق العراقية فى الدراسة والماخوذ من مصادر محليه حيث تم اخذ 100 غم من لب ثمرة الجوز ووضعت فى بيكر بحجم 500 مل من الماء المقطر distilled water وسخنت على درجة حرارة 40م° ثم وضع فى جهاز الهزاز المغناطسي hotplate magnetic sterrier بدرجة 40م° لمدة 24 ساعه, بعدها رشح المستخلص باستخدام جهاز الطرد المركزى لمدة 10 دقائق وبسرعه 2500 دورة بالدقيقة.

بعدها اخذ العالق ورشح باستخدام ورق ترشيح (wahatman NO.1) ثم وضع فى الحاضنه (37°م) لغرض تجفيفة. اذيب 1غم من المستخلص المائي الجاف بـ 100مل من وسط غذائى خالى من المصل serum free media (SFM) والذى استخدم فى التجارب اللاحقه (8 ,9) .

Corresponding Address:
Ayeda M. Majeed
Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research/ AL-Mustansiriya University
Email: Abeda_flower@yahoo.com

خط خلايا الـ *(AMGM) Gliobiastoma*):

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).

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

خط الخلايا *(REF) Rat Embryo Fibroblast* :

هي خلايا طبيعية لجنين الفأر المحلي. استخدم هذا الخط في التمريرة رقم 37 من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية، والمستحدث من قبل الباحث الشمري (3) اذ نمي هذا الخط على وسط (RPMI-1640 sigma) Chemicals وعند تكون الطبقة الاحادية كاملة (confluent Monolayer) تمت معاملة الخلايا بمحلول التربسين / فرسين (trypsine / versine) لتهيئة 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 القلويدات Alkaloids : وتشمل كاشف ماير Mayer's reagent
2. الكشف عن الفينولات (التانينات Tannins – فلافينويدات Flavinoids) وتشمل (كاشف Fe Cl3 وكاشف K OH) .
3. الكشف عن التربينات Terpenoids – السابونيات saponins وتشمل كاشف الرغوة وكاشف Hg Cl2.

أختبار السمية الخلوية *Cytotoxicity assay*:

تم الحصول على عالقة الخلايا السرطانية والطبيعية بمعاملة وعاء الزرع الحاوي على خلايا كثيفة النمو بمادة التربسين/ فرسين واضافة 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 لـ 3 مكررات بدءاً بالتركيز 10000 مايكرو غرام / مل وانتهاءا بالتركيز 39.1 مايكروغرام / مل وبطريقة التخافيف العشرية (10000 ، 5000 ، 2500 , 1250 , 625 , 312.5 ، 156.25 ، 78.125 ، 39.0625 مايكروغرام / مل واجريت التخافيف 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 باستخام جهاز ELISA reader بطول موجي 492 نانوميتر (11).

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

اجري هذا الاختبار للخط الخلوي السرطاني AMGM. استخدمت اربعة تراكيز هي(312.5، 156.2، 78.1 و39.1 مايكروغرام/ مل) على التوالي وكما يأتي:

الحضن والحصاد *Incubation and Harvesting*:

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

ثم اضيفت مادة الكولسيمايد Colcemid (Serva-Germany) بمقدار مليلتر للقنينة الواحدة ، وأعيدت القناني إلى الحاضنة وتركت لمدة 20 دقيقة، وبعدها أفرغت القنينة من الوسط ألزرعي ثم أضيف التربسين/ فرسين لمدة 2 دقيقة ومن ثم أعيد الوسط ألزرعي 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 آنياً (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 1500دورة/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 زجاجيه نظيفة، رطبة وبارده ثم رج الراسب المحضر بالخطوه السابقة جيدا باستعمال ماصه باستور نظيفة وجافة، بعدها تم تقطير العالق على الشرائح الزجاجية بمعدل (5-4) قطرات/شريحه وعلى بعد (-30 50) سم وتركت لتجف في الهواء. صبغت الشريحة المحضرة بالخطوات السابقة بواسطة صبغة كمزا (Giemsa stain, BDH. England) إذ غُطت 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 الطور الاستوائي Metaphase وفق طريقة (13)، وذلك بتقسيم الخلايا المنقسمة على العدد الكلي للخلايا (1000 خلية) وفقا للمعادلة التالية: دليل الانقسام MI = عدد الخلايا المنقسمة/ عدد الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة (1000 خلية) X 100 .

التحليل الاحصائي *Statistical Analysis*:

في تجربة اختبار تاثير المستخلص المائي لنبات الجوز تم استخدام الحقيبة الاحصائية للعلوم الاجتماعية SPSS Statistica Package (Social Sciences V(II بتطبيق التباين احادي الاتجاه (ANOVA) باستخام اختبار اقل فرق معنوي Lest Significant differences (LSD)) بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$).

النتائج:

اظهرت النتائج من خلال اجراء الكشوفات الكيميائة احتواء مستخلص الجوز على القلويات والفينولات والسايوتينات وكما ياتي (جدول رقم 1) :

الكشف الكيمياوي الاستدلالي للمركبات الفعالة:

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

المجموعة الكيماوية	المدروسة	النتيجة
القلويدات	كاشف ماير	+
فينولات	تانينات / $Fe\ Cl_3$	+
	الفلافينولات / K OH	+
التربينات	السايوتينات	+
	$Hg\ Cl_2$	-

(+): تدل على ايجابية الكشف

(-) : تدل على سلبية الكشف

دراسة السميه الخلوية:

تم دراسة تاثير 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 ($P \leq 0.05$) مابين التراكيز قيد الدراسة وابتداءاً من تركيز 10000 – 39.1 مايكروغرام / مل والتي بلغت معدلات (0.06، 0.06 ، 0.08 ، 0.06 ، 0.06 ، 0.06 ، 0.08 ، 0.07) مقارنة بمعاملة السيطرة 0.11 حيث بلغت اعلى نسبة لتثبيط الخلايا للتركيز 312.5 مايكروغرام / مل مع عدم وجود فروقات معنوية بمستوى معنوية ($P \leq 0.05$) مابين التراكيز ذاتها قيد الدراسة وخلال 48 ساعة الاولى من التعريض.

وقد ازدادت معدلات تثبيط الخلايا بعد 72 ساعة من التعريض حيث بلغ اعلى نسبة تثبيط الخلايا هو 71 % للتراكيز 10000 مايكروغرام / مل حيث اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية بمستوى معنوية ($P \leq 0.05$) بين التراكيز قيد الدراسة ولتراكيز 10000 – 39.1 مايكروغرام / مل والتي بلغت (0.06، 0.08 ، 0.07 ، 0.08 ، 0.1 ، 0.09 ، 0.07 ، 0.09 ، 0.07) مقارنة بمعامل السيطرة (0.22) (جدول رقم 2).

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

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

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

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

جدول (3) : الكثافة الضوئية *Optical Density* لخلايا *REF* بعد 48 و72 ساعة من تعريض الخلايا للمستخلص

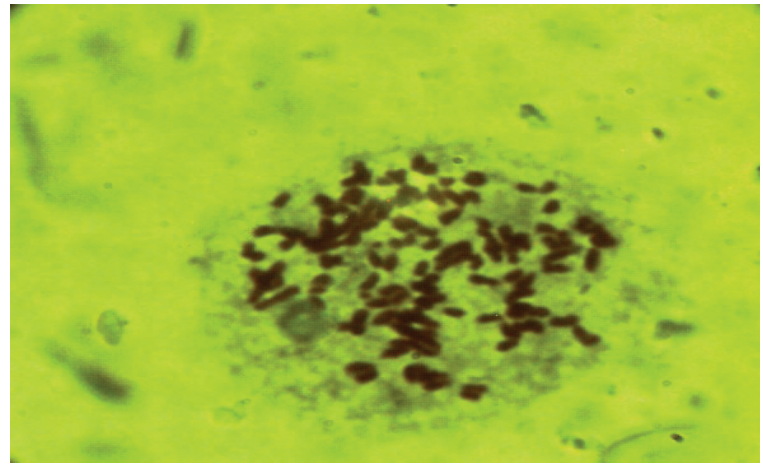
Concentration (µg / ml)	Exposure Time (hrs.)	
	48 (mean ± SE)	72
Control	0.102± 0.0315	0.048± 0.00353
39.1	0.070± 0.00306	0.045± 0.00120
78.1	0.070± 0.0147	0.045± 0.0020
156.2	0.072± 0.0147	0.043± 0.00171
312.5	0.081± 0.00651	0.049± 0.000577
625	0.060± 0.00233	0.036± 0.00755
1250	0.076± 0.0107	0.042±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

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

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

تم إجراء التحليل الكروموسومي للخط الخلوي السرطاني AMGMبعد دراسة السمية الخلوية للمقارنة بين الهيئة الكروموسومية لذلك الخط بعد المعاملة بالمستخلص ولاربعة تراكيز هي (312.5، 156.2، 78.1 و39.1 مايكروغرام/ مل(وتم مقارنتهم مع السيطرة. اذ حُسب 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/ مل بالمقارنة مع معدل معامل الانقسام للسيطرة. ولوحظ وجود تأثير تثبيطي تام لمعامل الانقسام عند التراكيز (156.2، 78.1 و39.1 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 و39.1 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.



صورة رقم (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± الخطأ القياسي)	
السيطرة	3	0.76± 0.37	A
312.5	3	0.0667± 0.033	B
156.2	3	0.0	B
78.1	3	0.0	B
39.1	3	0.0	B

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

المناقشة:

من خلال دراسة تاثيرات السمية للمستخلص المائي لنبات الجوز اظهرت النتائج انه عند معاملة الخلايا السرطانية بالمستخلص اظهرت التاثير وباقل التراكيز (لعدم وجود فروقات معنوية ما بين التراكيز المستخدمة) حيث وجد ان هناك تاثير للوقت Time Dependent وليس لتركيز dose Independent مقارنة بمعامل السيطرة . مما يدل على تاثير 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 Druges ومنه Cyclophsphamide عندما تم تجربته على فأران مصابة بالسرطان فقلل المستخلص من تاثير سمية هذه العقاقير وتاثيراتها الجانبية (16).

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 علاجا مستقبلا. لذلك استخدمت انظمة عديدة لهذا الغرض، ومنها مزارع الخلايا اللمفاوية 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 ثبط انقسام الخلايا اي قلل اعداد الخلايا في الطور الاستوائي. حيث لوحظ وجود انخفاض بفرق معنوي لمعدل معامل الانقسام للخلايا اللمفاوية المعاملة بالمستخلص بتركيز 39.1 مايكروغرام/ مل عند المقارنة مع معدل الانقسام للخلايا اللمفاوية غير المعاملة (السيطرة)، ولم يتم الحصول على خلايا في الطور الاستوائي عند المعاملة بالتراكيز الاعلى من المستخلص (17).

لذلك فان مستخلص الجوز يثبط معامل الانقسام للتراكيز 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).

المصادر:

1. يحيى ، توفيق الحاج (2003) نبات والطب البديل . الدار العربية للعلوم . بيروت .لبنان..
2. بينولوب ، او دي (1999) . الكامبل في الاعشاب وانباتات الطبية . (مترجم) الدار العربية للعلوم . بيروت. لبنان.
3. الشمري ، احمد مجيد (2009). عزل فايروس النيوكاسل المتكيف على الخلايا السرطانية واستعماله في علاج الاورام المغروسة بالتأزر مع العلاج الكيمياوي. رسالة دكتوراه. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.
4. Chudnoff, M. (1989). Tropical timbers of the world. USDA. Forset Service. Ag. Hand Book. N. 607.
5. Ahmad, S.; Wahid, M. and Bukhari, A. (1973). Fungistatic action of Juglans. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 3(3):436 – 438.
6. Bartram, T. (1995). Encyclopidia of Herbal Medicine. Dorset, UK : Grace Publishers.
7. Azaizeh, H.; Fulder, S.; Khalil, K. and Said, O. (2003). Ethnobotanical Knowledge of local Arab practitionersin the Middle Eastern region: the status of traditional Arabic medicine. Fitoterapia. 74: 98 – 108.
8. Harborne, J. B.; Mabraj, T.J. and Mabraj, N.(1975). Physiology and function of flavonoida. Academic Press, New York, Pp. 970.
9. Chadha, Y.R. (1976). The Wealth of India (Raw materials). V.X.SP.W., Pp: 580-585.
10. 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. Karder 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 midical 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 noval 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. Enviromental & Molecular Mutagenesis. V.(26), Issue (3): 248-254.
18. Anderson, K. and Teuber (2010). Ellagic acid & Poly phenolics present in walnuk kernels in vitro human peripheral blood mononuclear cell proliferation & after cytokine products. Annals of New York Academy of Scince. 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 ،) 39.1و µg/ml compared with control.