The Study of Inhibitory Effects of Some Plant Extracts on Lymphocytes from Healthy Person

Dr.Azhar M. Haleem
Environmental Research center,University of Technology/Baghdad
Email:amhjanabi@yahoo.com
Dr.Esmaeel K. Shubber
Science and Technology, University of Nahrain/ Baghdad
Dr.Abdul Wahid B. Al-Shaibani
Ministry of science and technology/ Baghdad

Received on: 23 /9 /2012 & Accepted on: 7 /3 /2013

ABSTRACT

The present study aimed to select plant extract or mix. of plant extracts have inhibition effect on Cancer cells from untreated CML patients the results showed the following.

Some plants extracts were used (aqueous, alcoholic, oily, alkaloid and flavonoids) from Nigella sativa seeds, Allium sativum Sativum and Allium sativum ophioscordon fruits and the inhibitory effects five different concentrations (0.1,1,10,10,1000) µg/ml was investigated on peripheral lymphocytes from healthy persons by using cytogenetic analysis BI,MI,RI,CA,SCE and CCP.

The alcoholism mix. have the greatest inhibitory effects by reducing all cytogenetic parameters, this was selected to study its effect on patient's lymphocytes.

Keywords: CML, Cytogenetic, Chromosomal Aberrations, Plant Extracts, Medical Plants.

دراسة التأثير التثبيطي لبعض المستخلصات النباتية على الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى انتخاب مستخلص نباتي او مزيج من المستخلصات النباتية له تأثير تثبيطي في خلايا لمفاوية لاشخاص بايضاض الدم النخاعيني المزمن، كخطوة تمهيدية وباستخدام مجموعة من طرائق الاستخلاص المختلفة (المائي، الكحولي، الزيتي، المزيج المائي، المزيج الكحولي، الالكلويدي والفلافينويدي)لبذور نبات حبة البركة *Nigella sativa*وثمار نباتي الثوم و *Allium sativum* *sativum* الصرماق *Allium sativum ophioscordon*، باستخدام خمسة تراكيز هي (٠,١،

https://doi.org/10.30684/etj.31.6B.13
2412-0758/University of Technology-Iraq, Baghdad, Iraq
This is an open access article under the CC BY 4.0 license http://creativecommons.org/licenses/by/4.0

١،١٠، ١٠٠، ١٠٠٠) مكغم/ مل . تم اختيار التركيز الامثل والمستخلص الامثل والذي يعطي اكبر نسبة تثبيط لمؤشرات التحليلات الوراثية كعامل لتحول الارومي ومعامل الانقسام الخيطي ومعامل الزيغ الكروموسومي والتبادل الكروماتيدي الشقيق ومعامل التضاعف وتوالي دورة الخلية . اشارت النتائج الى ان مزيج المستخلصات الكحولية للنباتات الثلاثة اعطى اعلى نسبة تثبيط للمؤشرات السابقة ليتم انتخابه لدراسة تأثيره على خلايا لمفاوية من مرضى ابيضاض الدم النخاعيني المزمن.

المقدمة

تعاني المادة الوراثية في الخلايا الحية من هجوم مستمر بعوامل فيزيائية او كيميائية متواجدة في بيئتها الطبيعية ، و من امثلتها انواع الاوكسجين الفعال ROS الذي ينتج من فعاليات ايضية مختلفة [1] . تتفاعل هذه المركبات ذات المنشأ الداخلي او الخارجي بصورة مباشرة او غير مباشرة مع جزيئات ال DNA مكونة نواتج كيميائية اخرى اضافية (Adducts) تؤدي الى تحوير او تغيير في الصفات الطبيعية للقواعد النتروجينية في جزيئة ال DNA ، اذا لم يتم ازالتها باحدى ميكانيكيات الاصلاح المعروفة في الخلية ، فأن هذه النواتج ستتداخل في عمليتي الاستنساخ و التضاعف مما ينتج عنه حشر لقواعد نتروجينية في مواقع غير مواقعها الحقيقية مؤدية بذلك الى تراكم في الطفرات مما ينتج عنه السرطان [2] . ان متابعة و فهم تفاصيل هذه العملية يؤدي الى معرفة سبل الوقاية من الاصابة بمثل هذه الامراض التي تنتج عن خلل بالمادة الوراثية او تغيير بالبنية الطبيعية او التركيب الطبيعي لجزيئة ال DNA.

تجريبيا"يمكن ان يحصل تحوير في احدى هذه المراحل او جميعها اما بالتحفيز (Stimulated) او بالتثبيط (Inhibited) بواسطة مركبات كيميائية في الغذاء، فالمركبات المثبطة التي تعرف مضادات التسرطن (Anticarcinogenesis) تقسم الى ثلاثة اقسام اعتمادا" على نوع التداخل و وقت التداخل وقد تخدم اكثر من ميكانيكية لتثبيط نمو الورم .

أ-المثبطة لتكوين العامل المسرطن .

و ذلك من خلال تفعيل انزيمات المرحلتين الاولى و الثانية (Phase I , II) لازالة الفعل السمي للمواد المسرطنة من خلال قابليتها على جعله اكثر ذوبانا" في الماء مما يسهل طرحه خارج الجسم [3] .

ب- مركبات مزيلة للعامل المسرطن Carcinogen scavenger

و التي ترتبط بالعامل المسرطن لتكوين معقدات غير فعالة [4] تطرح خارج الجسم باحدى اليات الافراغ المعروفة.

ج- مركبات تثبط مرحلتي التعزيز و التحول الورمي .

الهدف من الدراسة

التحري عن قابلية بذور حبة البركة والثوم والصرماق في تثبيط نمو وعيوشية الخلايا اللمفاوية لاشخاص مصابين بابيضاض الدم النخاعيني المزمن وذلك من خلال تحديد الجرعة المؤثرة باستخدام مؤوشرات الوراثة الخلوية المعروفة وهي:

١. معامل الانقسام الخيطي Mitotic Index
٢. معامل التحول الارومي Blastogenic Index
٣. معامل الزيغ الكروموسومي Chromosomal aberration
٤. التبادل الكروماتيدي الشقيق Sister Chromatid Exchange
٥. معامل التضاعف Replicative Index
٦. توالي دورة الخلية Cell Cycle Progression

المواد وطرائق العمل

نباتات الدراسة

بذور حبة البركة *Nigella sativa*

ثمار نبات الثوم *Allium sativum sativum*
ثمار نبات الصرماق *Allium sativum ophioscordon*
جرى تصنيف النباتات المدروسة اعلاه من قبل الاستاذ الدكتور علي الموسوي / كلية العلوم/ جامعة بغداد.

الاستخلاص النباتي

الاستخلاص المائي

اتبعت طريقة [5] بوزن 10غم من المسحوق النباتي في دورق زجاجي و اضافة ١٠٠ مل من الماء المقطر (أي بنسبة 1 : 10) وزن الى حجم، ترك الخليط لمدة 24 ساعة في حاضنة منضدية هزازة بحرارة 28 م° رشح النقيع خلال اوراق ترشيح (Whattman 1) و نبذ مركزيا بسرعة 2000 دورة / بالدقيقة لمدة 10 دقائق، اهمل الراسب و عقم الراشح خلال اوراق ذات ثقوب بقطر Mm ٠,٢٢، حفظ المستخلص في -٢٠ م° بقناني داكنة لحين الاستخدام.

الاستخلاص الكحولي

حضر المستخلص وفقا"لما ورد في [6]، و ذلك بنقع 10 غم من المسحوق النباتي في ١٠٠ مل كحول اثيلي تركيزه 70% لمدة ٢٤ ساعة في حاضنة منضدية هزازة، رشح النقيع بأوراق ترشيح نوع (Whattman 1) نبذ الراشح مركزيا" لمدة ١٠ دقائق بسرعة ٢٠٠٠ دورة / الدقيقة ، بخر الكحول بدرجة ٣٧ م° و ذلك بوضع المستخلص في الحاضنة لمدة ٤٨ ساعة، علق المستخلص ب ١٠ مل من الماء المقطر و عقم و حفظ بدرجة -٢٠ م° لحين الاستعمال .

الاستخلاص الزيتي استخدمت عدة طرق لهذا الغرض

طريقة العصر الميكانيكي

تم الاستخلاص حسب ما ورد في [7] و ذلك بتسليط ضغط مقداره ٤٠٠ بار على ٥٠٠غم من مسحوق حبة البركة باستخدام مكبس هيدروليكي (Hydraulic press)، عقم الناتج خلال اوراق ترشيح ذات ثقوب بقطر 0.22 µm و حفظ بدرجة ٤م° لحين الاستعمال .

الاستخلاص بالمذيبات العضوية

اتبعت طريقة [7] باستخدام جهاز السكسوليت (Soxhlet) واستخدم الهكسان كمذيب لامتلاكه درجة تبخر (60 – 80) م° لمدة ٤ ساعات اذ وضع ٣٥ غم من مسحوق حبة البركة في كشتبان (Thimble) و اضيف اليه ٢٥٠ مل من المذيب، جرت عملية الاستخلاص بعدها بخر المذيب بالمبخر الدوار (Rotary evaporatov) . عقم الزيت الناتج و حفظ بحرارة ٤م°لحين الاستعمال [8] .

استخلاص الزيت الطيار

جرت نفس العملية اعلاه باستخدام جهاز كلافنجر (Clevenger) المخصص لاستخلاص الزيوت الطيارة من بذور النباتات ذات المحتوى العالي من المواد الزيتية .

استخلاص الفلافونات

اتبعت الطريقة الواردة في [9] و ذلك بنقع ٥٠ غم من المسحوق النباتي لمدة ٢٤ ساعة بالكحول المثيلي بتركيز ٧٠ %، رشح المزيج خلال اوراق ترشيح (Whattman 1) بخر بعدها الكحول بتركه في الحاضنة لفترة من الزمن لحين الجفاف التام للعينة، علق المستخلص بحجم معين من الماء المقطر و عقم بالترشيح و حفظ في قناني داكنة في -٢٠ م° لحين الاستعمال .

استخلاص القلويدات من النباتات

اتبعت الطريقة الواردة في [9] و ذلك بخلط 50غم من المسحوق النباتي الجاف مع ٢٥٠ مل من الكحول الاثيلي ترك النقيع لمدة ٢٤ ساعة على محرك مغناطيسي (Magnetic stirrer) ، رشح بعدها المحلول خلال اوراق ترشيح نوع (Whattman 1) ، جفف الكحول بتركه في الحاضنة لمدة ٤٨ ساعة بحرارة٣٧ م°، و بعد ان ذوب المتبقي بكمية قليلة من الكحول اضيف اليه ٧٥ مل من حامض

الكبريتيك المخفف (2) % و ترك في الحاضنة لحين تبخر كل الكحول الموجود في الدورق ، و للتأكد من وجود القلويدات اجري اختبار ماركيز (Marquis) اذ يتكون لونا" رصاصيا" دلالة على ايجابية الفحص.

الكشف عن المواد الفعالة في النباتات

حضرت كواشف المواد الفعالة في النباتات واستخدمت وفق ما ورد في [10].

عينات الدم

جمعت عينات الدم ل ١٧ شخصا سليما لا يعانون من امراض ظاهرة ولا يتعاطون اي علاج بوساطة حقن نبيذة بحجم ٥ مل حاوية على مادة الهيبارين المانعة للتخثر.

زرع الدم

تمت عملية الزرع للحصول على الكروموسومات حسب الطريقة الواردة في [11] و ذلك باضافة ٠,٥ مل من الدم الى٤,٥ مل من الوسط الزرعي الكامل RPMI – 1640 المجهز ب ٠,٤ مل من المادة المحفزة PHA و اربعة تراكيز مختلفة من المزيج النباتي الذي تم الحصول عليه من خلط المستخلصات الكحولية للنباتات الثلاث و هذه التراكيز (١،٠,١، ١٠، ١٠٠) مكغم / مل و انبوبة خامسة حاوية على ٠,٦٥ مكغم / مل من عقار MTX عدت كسيطرة موجبة ، حضنت الانابيب بصورة مائلة بحرارة ٣٧م° لمدة ٧٠ ساعة ، اضيف محلول الكولجسين بتركيز نهائي ١٠ مكغم / مل، اعيدت الانابيب للحاضنة بحرارة ٣٧م° لمدة ساعتين، نبذ المزروع مركزيا" بسرعة ٢٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٠ دقائق ، اهمل الراشح وعلق الراسب ب ٥ مل من محلول واطيء التوتر (Hypotonic solution) و الذي تمت اضافته تدريجيا" مع الرج المستمر ، اعيدت الانابيب الى الحاضنة لمدة ٤٥ دقيقة اخرى للتخلص من كريات الدم الحمر بتفجيرها في محلول (KCL) وانتفاخ الخلايا اللمفاوية لتكون جاهزة لتحضير الكروموسومات منها . نبذت محتويات الانابيب مركزيا" بسرعة ٢٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٠ دقائق للتخلص من الراشح و تعليق الراسب بمحلول التثبيت (Fixative solution) البارد المحضر انيا، اضيف هذا المحلول بشكل قطرات على جدار الانبوبة مع الرج المستمر حتى الحصول على حجم ٥ مل تقريبا"، لتتم بعدها عملية النبذ المركزي بسرعة ٢٠٠٠ دورة / الدقيقة ، تكرر هذه العملية لعدة مرات حتى يصبح المحلول عديم اللون ، علقت الخلايا المترسبة ب ١,٥ – مل من المحلول المثبت، مزجت بوساطة ماصة باستور نظيفة وجافة لتصبح جاهزة للتقطير على شرائح مبردة و رطبة. اخذ حجم معين من الخلايا المحضرة في اعلاه و على ارتفاع حوالي ٣٠ سم تم اسقاط (7) قطرات متباعدة على الشريحة الزجاجية للحصول على انتشارية جيدة للكروموسومات لسهولة ملاحظة التغيرات الكروموسومية .

تحضير الشرائح و صبغها

جففت الشرائح المقطرة في الفقرة السابقة بالهواء، و بعد جفافها تماما" قسمت الى قسمين صبغ القسم الاول منها بصبغة كمزا لمدة دقيقتين، ثم غسلت بالماء المقطر و يحسب خلالها كل من معامل التحول الارومي (BI) و معامل الانقسام الخيطي (MI) ومعامل الزيغ الكروموسومي (CA) اما القسم الثاني فصبغ بصبغة دابي و التي تركت على الشريحة لمدة 10 دقائق لتغسل بعدها الشرائح بمحلول الفوسفات القاعدي المحضر في تم تغطيتها باغطية الشريحة (Cover slips) و فحصها تحت مجه متفلور (Fluorescence microscope)لحساب كل من معامل التضاعف (RI) و التبادل الكروماتيدي الشقيق (SCE) و توالي دورة الخلية (CCP) على طول موجي تراوح بين 360 – 390 نانوميتر ، و تم حساب كل من معامل الانقسام (MI) و معامل التحول الارومي (BI) و معامل التضاعف (RI) و التبادل الكروماتيدي الشقيق على وفق المعادلات الموضحة [10].

النتائج

الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في المستخلصات النباتية اثبت الكشف التمهيدي للمركبات الفعالة في المستخلصات المختلفة عن احتواء اغلب المستخلصات على اكثر من مركب قد تعزى اليه فعالية ذلك المستخلص و الجدول (1) يوضح نتائج الكشف الكيميائي لهذه المركبات .

الجدول (٢) يوضح تأثير المستخلصات المائية المختلفة لنباتات حبة البركة و الثوم و الصرماق في كل من معامل التحول الاروميي (BI) و معامل الانقسام الخيطي (MI) و معامل الزيغ الكروموسومي (CA) و التبادل الكروماتيدي الشقيق (SCE) و معامل التضاعف (RI) و توالي دورة الخلية (CCP) في الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي و تشير النتائج الى فعالية هذه المستخلصات في رفع معامل التحول الاروميي و معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف عند التراكيز الواطئة ثم تبدء هذه المعاملات بالانخفاض التدريجي عند زيادة التركيز وبفرق معنوي عند مستوى احتمالية (P≤ 0.05) . اما معامل الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق فقد انخفض معنويا" عند مستوى احتمالية (P≤ 0.05) و قد تناسب هذا الانخفاض تناسبا" طرديا"مع زيادة التركيز ، وبلغت اعلى نسبة لـه٦٥,٧٤ % للتبادل الكروماتيدي الشقيق عند التركيز ١٠٠٠ مكغم /مل للمستخلص المائي لبذور حبة البركة . اما معامل الزيغ الكروموسومي فكانت اعلى نسبة تثبيط لـه ٥٧,٧١ % عند التركيز ١٠٠٠ مكغم/مل من المستخلص المائي لبذور حبة البركة و ثمار نبات الثوم .

تأثير المستخلصات الكحولية للنباتات في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

جاء تأثير المستخلصات الكحولية لبذور نبات حبة البركة و ثمار نباتي الثوم و الصرماق على الخلايا اللمفاوية للانسان مختلفا" عما هو عليه في المستخلصات المائية و كما موضح في الجدول (3) ، و من هذه النتائج يلاحظ الانخفاض في معامل التحول الاروميي و معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف في التراكيز الواطئة من هذه المستخلصات و الذي استمر حتى التراكيز العالية اذ بلغت اعلى نسبة تثبيط لمعامل التحول الاروميي ٧٠,٦٨% عند التركيز ١٠٠٠ مكغم/مل لمستخلص الثوم الكحولي في حين بلغت اعلى نسبة تثبيط لمعامل الانقسام الخيطي ٨٧,٨٧% لنفس التركيز و لنفس المستخلص السابق . اما اعلى نسبة تثبيط لمعامل التضاعف فكانت للتركيز ١٠٠٠ مكغم/مل من المستخلص الكحولي لبذور حبة البركة و التي بلغت ٢٥% .

اما فيما يتعلق بمعامل الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق فقد انخفضا معنويا"ايضا"لاغلب التراكيز المستخدمة و على مستوى احتمالية (P≤ 0.05) ، اذ بلغت اعلى نسبة تثبيط لمعامل الزيغ الكروموسومي ٥٦,٧٥%عند التركيز ١٠٠٠ مكغم/مل من مستخلص حبة البركة الكحولي ، في حين كانت للتبادل الكروماتيدي الشقيق ٤٠,٨٢% عند التركيز ١٠٠٠ مكغم/مل من المستخلص الكحولي لنبات الصرماق .

تأثير المستخلصات الزيتية لنباتي (حبة البركة و الثوم) في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

تمت دراسة تأثير زيت حبة البركة المستخلص بطرائق مختلفة في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء، فقد استخدم زيت حبة البركة المستخلص بطريقة ميكانيكية و الآخر بطريقة كيميائية وزيت حبة البركة الطيار، كما تم استخدام زيت الثوم و النتائج موضحة في الجدول (4) . فقد ادت مستخلصات حبة البركة الزيتية الى زيادة معامل التحول الاروميي و معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف وبجميع التراكيز المستخدمة، بلغت اعلى نسبة تفعيل عند التركيز (1000) مكغم/مل من مستخلص الزيت الطيار لنبات حبة البركة اذ بلغت نسبة الزيادة في معامل التحول الاروميي (118.22)% و (96.25)% و (28.42)% لكل من معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف لذات المستخلص و لنفس التركيز وعلى التوالي. اما معاملات الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق فقد انخفضت انخفاضا"معنويا"عند مستوى دلالة (P≤0.05). و فيما يخص مستخلص الثوم فقد كان تأثيره مختلفا"تماما"حيث ثبط كل من معامل التحول الاروميي و معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف تثبيطا"كبيرا"، في حين زاد من معامل الزيغ الكروموسومي زيادة معنوية عند مستوى احتمالية (P≤0.05) ، أي ان تأثيره كان سميا"على الخلايا اللمفاوية للدم المحيطي .

تأثير مزيج المستخلصات المائية و الكحولية للنباتات الثلاثة في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

تبين نتائج الجدول (5) تأثير تراكيز مختلفة من مزيج المستخلصات المائية و الكحولية لنباتات حبة البركة و الثوم و الصرماق على الخلايا اللمفاوية السليمة للدم المحيطي . فقد كان تأثير هذين المزيجين مثبطا"لكل من معامل التحول الارومي و معامل الانقسام الخيطي و معامل الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق و معامل التضاعف ، لكن تأثير مزيج المستخلصات الكحولية كان اكبر بكثير اذ بلغ (100)% عند التراكيز(10 و 100 و1000) مكغم/مل ، و على هذا الاساس تم اختياره لدراسة تأثيره المثبط على الخلايا السرطانية في دم الاشخاص المصابين بابيضاض الدم النخاعيني المزمن (ML) .

جدول (5) تأثير تراكيز مختلفة من المزيج النباتي للمستخلصات المائية و الكحولية لنباتات (حبة البركة و الثوم و الصرماق) على الخلايا اللمفاوية السليمة للانسان.

تأثيرالمستخلصات الالكلويدية للنباتات الثلاثة في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

يوضح الجدول (6) تأثير المستخلصات الالكلويدية للنباتات الثلاثة على الخلايا اللمفاوية، اذ دلت نتائجه على ان تأثير المستخلصات الالكلويدية كان متشابها"و لكن بنسب متفاوتة، فقد ادت هذه المستخلصات الى تثبيط جميع المؤشرات قيد الدراسة و سجلت اعلى نسب تثبيط للمستخلص الالكلويدي لنبات حبة البركة و بلغت
(60.75 و 80.48 و 58.04 و 44.38 و 21.59)% لكل من معامل التحول الارومي و معامل الانقسام الخيطي و معامل الزيغ الكروموسومي و معامل التبادل الكروماتيدي الشقيق و معامل التضاعف و على التوالي .

تأثير المستخلصات الفلافينويدية للنباتات الثلاثة في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

تبين نتائج الجدول (7) التأثير المثبط للمستلخصات الفلافينويدية للنباتات الثلاثة و لجميع المؤشرات ، سجلت اعلى نسب تثبيط للمستخلص الفلافينويدي لنبات حبة البركة (74.22 و87.60 و52.87 و35.4 و25.13)% لكل من معامل التحول الارومي و معامل الانقسام الخيطي و معامل الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق و معامل التضاعف و على التوالي .

المناقشة

التأثير السمي للمستخلصات النباتية في الخلايا اللمفاوية السليمة للانسان

تشير النتائج المبينة في الجداول من (2) الى (7) الى تأثير المستخلصات النباتية المختلفة في الخلايا اللمفاوية السليمة للانسان خارج الجسم الحي تمهيدا" لاختيار التركيز الامثل و المستخلص الامثل الذي يمكن استخدامه مع خلايا لمفاوية معزولة من الدم المحيطي لاشخاص مصابين بابيضاض الدم النخاعيني الزمن (CML) .

فقد تأثر كل من معامل التحول الارومي (BI) و معامل الانقسام الخيطي (MI) و توالي دورة الخلية (CCP) تأثر ملحوظا"، عند معاملتها بالمستخلصات المختلفة و ذلك من خلال الزيادة او النقصان في قيم هذه العوامل تبعا"لنوع المستخلص وتركيزه .

فيما يخص تأثير المستخلصات المائية على هذه العوامل فأن المعاملة ادت الى رفع معامل التحول الارومي و معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف ارتفاعا"معنويا"مع التركيز، واستمر الارتفاع لحين الوصول الى التركيز (10) مكغم/مل اذ بدأ الانخفاض واضحا"في هذه العوامل مع زيادة التركيز، وهذا ما اتفق مع دراسة [12] من ان معاملة الخلايا اللمفاوية لدم الانسان بمستخلصات نباتي الكجرات و عرق السوس قاد الى زيادة في معامل الانقسام الخيطي و معامل التضاعف تلاه انخفاضا"بزيادة تركيز هذه المستخلصات .

ويمكن ان يعود سبب الارتفاع في معامل التضاعف الى تواجد مركبات ذات تأثير محفز للانقسام الخيطي في المستخلصات المائية لنبات حبة البركة و الثوم و الصرماق مثل البروتينات النباتية ولا سيما اللكتينات المعروفة بتأثيرها المحفز للانقسام الخيطي في التراكيز الواطئة، الا ان زيادة تركيزها قد يكون ذو سمية على الخلايا اللمفاوية [13] و[14]. او ان المستخلصات النباتية المختلفة تحتوي على مركبات

عديدة و كما موضح في الجدول (1) تؤدي زيادة تركيزها الى تثبيط معامل الانقسام الخيطي و بالتالي معامل التضاعف بضمنها التانينات و الالكلوليدات و الصابونين وغيرها، ومما يؤكد هذا المعنى هو ان التنقية الجزئية لبعض المركبات مثل الفلافينويد و الالكلويد ادت الى تثبيط اكبر لمعامل الانقسام الخيطي و معامل التحول الارومي و معامل التضاعف و الى عرقلة في توالي دورة الخلية من خلال اعاقة وصول الخلايا الى الانقسام الخيطي الثالث، أي انخفاض معدل الخلايا الواصلة الى (M3) مع زيادة تركيز هذه المواد ولوحظ هذا النمط من التثبيط عند استخدام المستخلصات الكحولية اذ ان الكحول المستخدم للاستخلاص وبتركيز (70)% و الذي يعد مذيب عضوي شائع الاستعمال في عمليات الاستخلاص المختلفة ادى الى حصول نسبة اكبر من المركبات المستخلصة و بذلك يكون تأثير المستخلصات بهذه الطريقة اكبر في تثبيط المعاملات قيد الدراسة.و هذا يتفق مع دراسة [15]من ان المستخلص الكحولي لنبات الهيل امتلك تأثيرا"مثبطا"للانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم و الخلايا الجنسية لفئران عوملت بهذا المستخلص، وكان الانخفاض ذو علاقة بزيادة تركيز الجرعة، كما واتفقت نتائج الدراسة هذه مع دراسة [16]من ان المستخلص الكحولي لنبات التمر الزهدي كان ذو تأثير اكبر في خفض نسبة التأثيرات السمية الوراثية للعقارين CP و MMC مقارنة"بالمستخلص المائي لهذا النبات، ومع دراسة [17] في ان المستخلص الكحولي لنبات الثوم امتلك فعالية عالية في تقليل الاثر السمي الوراثي و الدمي لعقارالتاموكسفين (Tamoxifin) و بخصوص ما اشار اليه [18] فانه لا يختلف عما ذكر سابقا"من ان المستخلص الكحولي لبذور واوراق نبات القريص امتلك فعالية تثبيطية اكبر من المستخلص المائي للفعل التطفيري لعقار MMC مما يؤكد وجود مركبات بنسبة اكبر في المستخلص الكحولي عنه في المستخلص المائي .

عند استخدام مزيج من المستخلصات المائية و الكحولية للنباتات الثلاث لوحظ ان كلا المزيجين أديا الى خفض قيم كل من (BI) و(MI) و(RI) ، لكن مزيج المستخلصات الكحولية امتلك تأثيرا"اكبر من المزيج المائي وذلك عندما ارتفعت نسب التثبيط لمعامل BI وMI وRI و على التوالي لتصل الى (67.6)% و (88.16)% و (31.28)% ان هذه الفعالية شابهت الفعالية التثبيطية لمستخلص الثوم الزيتي بل إنها فاقتها و هذا مما شجع التركيز على هذا المزيج و اختبار تأثيره على الخلايا اللمفاوية المعزولة من اشخاص مصابين بابيضاض الدم النخاعيني المزمن (CML) و استبعاد مستخلص الثوم الزيتي لانه يمتلك تأثيرا"سميا"وراثيا"عند زيادة التركيز تمثل بزيادة معامل الزيغ الكروموسومي (CA) و التبادل الكروماتيدي الشقيق (SCE) و هذا تأكيد آخر من ان تأثير المركبات المستخلصة بالكحول جاء تآزريا"في المزيج و ذلك عندما ارتفعت نسبتها بخلط المستخلصات الثلاثة مع بعضها مما أعطى المزيج فعالية تثبيطية اكبر ضد نمو و انقسام الخلايا اللمفاوية في الزجاج .

من خلال متابعة تأثير المستخلصات الزيتية لبذور حبة البركة بأنواعها الثلاثة الزيتي الميكانيكي و الزيتي الكيميائي و الزيتي الطيار وجد بأن جميعها رفعت من معامل الانقسام الخيطي و معامل التحول الارومي و معامل التضاعف ، وكان هذا متوقعا"اذ ان لمستخلصات حبة البركة ، ولا سيما الزيتية منها فعل محفز للانقسام الخيطي . ويتفق هذا مع ما توصل اليه من [20] و[19] من ان مستخلص حبة البركة الزيتي ادى الى زيادة معنوية في محتوى الخلايا من (DNA) وزاد من معدل تصنيع جزيئات جديدة من DNA من خلال ارتفاع نسبة المستهلك من الثايمدين المعلم بالتريتيوم (H3- thymidine) وهذا بدوره ادى الى زيادة معامل الانقسام الخلوي .

من النتائج يتضح بأن مستخلص الزيت الطيار امتلك اكبر فعالية في تحفيز الانقسام الخيطي، تلاه في ذلك المستخلص الزيتي الميكانيكي ثم المستخلص الزيتي الكيميائي . وقد يعود السبب الى ان نسبة وجود المواد الفعالة (الثايمول و الثايموكوينون) كانت اكبر في الزيت المستخلص بالعصر الميكانيكي، فقد بلغت نسبة مركب الثايموكوينون في هذا المستخلص (59.77)% فيما كانت نسبته (39.88)% في الزيت المستخلص كيميائيا"، ومن المتوقع ان تكون نسبة هذا المركب في مستخلص الزيت الطيار اكبر لانه مركب فينولي يتواجد بصورة اساسية في زيت حبة البركة الطيار اكثر من تواجده في زيوتها الثابتة . ومن

الجدير بالذكر هنا انه قد تم الكشف عن مركب الثايمول و الثايموكوينون في فحص الاستشراب بالطبقة الرقيقة (TLC) [21] و التحويل الاستشرابي الحيوي الذاتي [22].

ومما يعزز ما ذكر اعلاه دراسة [23] اذ انه استخدام المستخلص الزيتي الميكانيكي لبذور حبة البركة كمرهم في علاج الإصابة الجلدية المحدثة في فئران اصيبت بجرثومة المكورات العنقودية الذهبية *Staphlococcus aureus* حملت زيادة في نسبة تكوين الاوعية الدموية وتكون نسيج حبيبي في منطقة الجرح و بالتالي التآم الجرح بوقت قياسي مقارنة"بمعامل السيطرة السالبة .

من جهة اخرى و من النتائج المتعلقة بمعامل الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق في النباتات تحت الاختبار نلاحظ ان جميع المستخلصات المائية و للنباتات الثلاثة ادت الى خفض معنوي في هذين المتغيرين شابهه بذلك المستخلص الكحولي لنباتي حبة البركة و الثوم وشد عنهما المستخلص الكحولي لنبات الثوم اذ ان التراكيز الواطئة من هذا المستخلص ادت الى رفع في قيم (CA) و (SCE) و صولا"الى التركيز (10) مكغم/مل عندما بدأ الانخفاض واضحا"في قيمة (CA) مع زيادة تركيز المستخلص ، واتفق هذا مع ما توصل اليه[17] من ان مستخلص الثوم الكحولي يرفع قيمة (CA) مع زيادة التركيز في الفئران المختبرية .

أما المستخلصات الزيتية لبذور حبة البركة بأنواعها الثلاثة فقد ثبطت بشكل معنوي كلا العاملين ، وترافقت نسبة التثبيط مع زيادة التركيز ليشابه بذلك تأثير كل من المستخلص الالكلويدي والفلافينويدي للنباتات الثلاث وعلى حد سواء . وفيما يخص المزيجين المائي و الكحولي فقد سلكا نفس السلوك اذشاركا معظم المستخلصات المستخدمة في خفض (CA) و (SCE) ، وهذا يتفق مع دراسة [16] الذي اشار الى ان المستخلصين المائي و الكحولي لكل من نبات حبة البركة و الهيل و النومي بصرة لم يمتلكا تأثيرا"سميا"وراثيا"على العكس من ذلك فأن المستخلصات النباتية وبالتراكيز المستخدمة ادت الى خفض التردد التلقائي للتغيرات الكروموسومية و النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم والخلايا الجنسية للفئران المختبرية . واتفق هذا مع دراسة [12] من ان مستخلصات نبات الشيح و عرق السوس و الكجرات ثبطت التأثيرات السمية الوراثية و التطفيرية لعقار MMC على الخلايا اللمفاوية لدم الانسان و خلايا نقي العظم للفئران ، وهذا ما اكدته دراسة [18] من ان المستخلصات المائية و الكحولية لبذور اوراق نبات القريص ثبطت الفعل التطفيري لعقارMMC . وقد يعود السبب في تثبيط كل من (CA) و (SCE) عند استخدام مستخلصات حبة البركة المختلفة الى وجود المركب الأكثر اهمية وفعالية (Thymoquenon) الذي له دور كبير في حماية المادة الوراثية ضد العديد من الطفرات مثل (BP) و (MTX) و(CP) وغيرها [23]، او من خلال فعاليته المضادة للاكسدة (Antioxidant) وازاحته للجذور الحرة التي تسبب تحطيم لجزيئة الDNA [24]و [25] وهذا يتفق تماما"مع دراسة [26] الذي لاحظ ان معاملة الفئران بمستخلص حبة البركة الكحولي او بمركب (TQ) قد ادى الى حمايتها من السمية الوراثية المستحثة نتيجة الاصابة بالمنشقات المانسونية *(Schistosoma mansoni)* و المتمثلة بارتفاع معدلات الزيغ الكروموسومي اما السبب الآخر للانخفاض فقد يعود الى وجود مركبات اخرى مثل الفيتامينات ولا سيما كاروتين بيتا الذي يمتلك فعالية طبيعية مضادة للاكسدة ، وبسبب طبيعته الذائبة بالدهون فأنه يضفي حماية للمواد الدهنية المخزونة في الخلية خاصة لبيدات الاغشية الحية معيقا"بذلك تحرر الجذور الحرة الناتجة من تأكسد هذه الجزيئات و التي تكون مسؤولة عن الضرر الحاصل بالمادة الوراثية [27]. كما انها تسبب انخفاضا"كبيرا"لكل من (CA) و(SCE) في خلايا مبيض الهامستر من خلال اعاقتها بشكل مباشر او غير مباشر لعملية التنشيط الايضي لبعض المطفرات [28] .و من الفيتامينات الاخرى التي تلعب دورا"مهما"في الحماية ضد المطفرات و التي قد توجد في المستخلصات المستخدمة في هذه الدراسة هي فيتامين C و فيتامين E اذ يلعب الاخير دورا"وقائيا"ضد الإشعاع الذي يسبب تلف في جزيئة الDNA و كذلك ضد المطفر الهايدرازين ثنائي المثيل (DMH) [29] اما فيتامين C و المصنف كمثبط حيوي للمطفرات الجينية و الكروموسومية في مزارع خلايا الانسان واللبائن فباستطاعته ان يختزل معدل التبادل الكروماتيدي الشقيق في مزارع الخلايا البشرية وفي مزارع الخلايا اللمفاوية للانسان و يقلل نسبة

التغيرات الكروموسومية في الخلايا اللمفاوية لاشخاص متعرضين لقطران الفحم (Coal tar) [30] الا ان زيادة تركيزه قد تسبب سمية [31] . و هذا هو الاحتمال الاكثر قبولا"في تفسير سبب الارتفاع في معامل الزيغ الكروموسومي و التبادل الكروماتيدي الشقيق عند استخدام مستخلصات الثوم الكحولية و الزيتية ، او بسبب احتواءها على المركب (DATS) الذي يمتاز بدوره الهام في تقليل نمو الاورام و الذي قد يؤدي الى تشظية Fragmentation لجزيئات الDNA عند استخدامه بتراكيز عالية [32] اما سبب الاختزال الحاصل في قيمة (CA) و (SCE) نتيجة معاملة الخلايا بالمستخلصات الالكلويدية و الفلافينويدية لكون هذه المواد بحد ذاتها مضادات للتطفير، فباستطاعة بعض المواد الفلافينويدية مثل Quercetin تثبيط الانقسام الخلوي لخلايا سرطان القولون و الثدي و ابيضاض الدم في الانسان [33]. كما ان هذه الفلافينويدات بأنواعها المختلفة الذي يصل الى (4000) نوع معروفة باستطاعتها ان تثبط الفعل التطفيري للعديد من المواد المطفرة مثل (TPA) [34]و (DMBA) و (BP) وغيرها [35]و ذلك من خلال فعاليتها المضادة للاكسدة وازاحتها للجذور الحرة التي تتداخل مع المادة الوراثية وتسبب نشوء العديد من الاورام .

المصادر

[1].Shafirovich, F. and Geacintov, N. (2001): Proton coupled electron transfer reactions adistance in DNA duplexes, kinetic deuterium isotope effect. J. phys. Chem. Blos (35): 8431-8435.

[2].Suri, A.; Mao, B.; Amins, S.; Geacintov, N. (1999): Primer length dependence of formation of monomeric and dimeric DNA polymerase I, Biochemistry, (38):11834-11840.

[3].Geacintove, N.and Broyde, S. (2000): Principles 8. Overning confomation in stereoisomeric adducts of benzo (a) pyrene diol expoxide to adenine in DNA: steric and hydrophobic effects hotspots. Cancer Res. (60): 1849-1856.

[4].Wattenberg, L. (1987): Detoxification by phase I and II enzymes. Carcinogensis. (8): 1971- 1973

[5].Fujili, H.; Horiuchi, T. and Yamashita, K. (1986): In plant flavonoids in biology and medicine: Biochemical, pharmocological and structurs activity relationships. Alan R. liss, New York. PP. 429-440.

[6].Sakai, Y.; Nagase, H. Ose, Y.; Sato, T.; Yamada, A.; Hibi, M. and Yamad, F. (1986): Antimutagenicity of extracts from crud drugs in chinese medicine. Mutat. Res. (174): 1-4.

[7].Akgul, A. (1989): Antimicrobial activity of blackcumin essential oil. Gazi univ. Eczacilik fakuletesi Dergisi.

[8].Babayan, V. K.; Koottungal, D.; Halady, G. A. (1978): proximate analysis of fatty acid and aminoacids composition of Nigella sativa seeds. J. Food Science. (43): 1314-1316.

[9].Hui, Y.; Gor ham, J.; Murrell, K. and Cliver, D. (1999): Foodborne Disease Handbook. Vol 3, Marcel Dakker, New York.

[10]الجنابي، ازهار محمود،(٢٠٠٤): التأثير المضاد لبعض المستخلصات النباتية على الخلايا اللمفاوية لابيضاض الدم النخاعيني المزمن، اطروحة دكتوراه/ كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية.

[11].Verma, R. and Babu, A. (1989): Human chromosomes: Manual of Basic techniques. Pregramon press, New York.

[12].الخياط ، بشرى محمد امين ،(١٩٩٩) : دراسة القابلية التطفيرية و المضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية ، رسالة دكتوراه / كلية التربية ابن الهيثم – جامعة بغداد.

[13].Haq, A.; Abdullatif, M.; lobo, P.; Khabar, K. ; Sheth, K. and Al-sedairy, S. (1995) : Nigella sativa effect on human lymphocytes and PMN phagocyticactivity. Immunopharmacology, (30): 147-155

[14].Haq, A.; Lobo, p.; Al- Tufail, M.; Rama, N. and Al – sedairy, (1998): Immunomodulatory effect of Nigella sativa proteins fractionat by ion exchange chromotography. Int. J. Immunopharmacology (21): 283-292.

[15]حسن ، مفيد احمد قائد ، (٢٠٠٢) : استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط الاثر السمي الوراثي لبعض العقاقير المضادة للسرطان في الفار ، رسالة دكتوراه / كلية العلوم جامعة بابل.

[16]السعدي ، محمد حمود محيسن، (١٩٩٧) : تثبيط تاثير التطفير الوراثي لبعض المسرطنات الكيميائية باستخدام مستخلص التمر الزهدي ، رسالة ماجستير / كلية التربية ابن الهيثم – جامعة بغداد .

[17]صيهود ، يحيى دريعم، (٢٠٠٠) : تثبيط التاثيرات الدمية و الوراثية الخلوية لعقار التاموكسفين بواسطة مستخلص الثوم ، رسالة ماجستير ، تربية ابن الهيثم – جامعة بغداد .

[18]العبيدي ، ليث عبد الحسن محمد جواد (٢٠٠١) : التحري عن التاثير المضاد للتطفير في مستخلصين من نبات القريص نوع Urtica pilufera في الفار الابيض ، رسالة ماجستير / كلية العلوم / جامعة الكوفة – العراق .

[19].Steiner, J.; Perz, Z. and Taichman, L. (1966): Cell population dyhamics in liver review of quantitation morphological techynique applied to study physiobgical and pathological growth. Exp. Mol. Path (3): No. 4 63-69.

[20].Ralph, W.; Alberi, k.; Kurran, G. and Millward, G. (1979): Liver and Bilary Disease, W. B. Saunders, Philadelphia

[21] السلعوس ، عارف تيسير عارف ، (١٩٩٥) : دراسة الصفات الكيميائية و النباتية لنبات الزعتر ، رسالة ماجستير في علوم الادوية و السموم / كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

[22].Maruyama, S.; Muramatsu, K.; Schimizu, S. and komiyama, K. (1985): Evalution of analytical method of ontibiotics inraw milk by the disk method and TLC-outobiography. J. Food Hygienic society (26): 65-72.

[23] السماك ، ميثم احمد محمد ، (٢٠٠١) : دراسة تاثير المستخلص الزيتي للحبة السوداء Nigella sativa في نمو بعض الاحياء المجهرية المرضية و المعزولة من حالات مرضية سريرية ، رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

[24].Daba, M. and Abdel- Rahman, M. (1998): Hepatorotective activity of TQ in isolated rat hepatocytes. Toxicol. Lett. (95): 23-29.

[25].Nagi, M. N.; Alam, K., Badary, O: A.; Al-Shabanah, O.; Al-Sawaf, H. and Al-Bekairi, A. (1999): Thymoquinone protects against CClyhepatotxicity in mice via antioxidant mechanisms. Biochem. Mol. Bio. Int. (47): 153-159.

[26].Abuol- Ela, E. (2002): cytogenetic studies on Nigella sativa seeds extracts and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. Mutation Res. (516): 11-17.

[27].Giorgio, B. (1994): Antimutagens in food, trens in food science and Technology. (5): 390-395.

[28].Beakman, C.; Roy, R. M.; Sprpule, A. (1982): cited by Giorgio B. (1994).

[29].Dunham, W.; Zuckerkandl, E.; Revnolds, S.; Willoughbv, R.; Marcosson, R.; Barth, R. and Pauling, L. (1982): Effect of intake of L- ascorpic acid on the incidence of dermal neoplasms induced in mice by UV light, proc. Nati. Acad. Sic. USA (79): 7532-7536.

[30].Morgan, A.; Cone, R. and Elgert, T. (1976): The mechnism of DNA sterand breaks by vit-c and superoxide and protective roles of catalase in cultured human lymphocyte. Muta. Res. (3): 1139-1149.\
[31].Sakamoto, k.; Lawson, L. and Milmer, J. (1997): Allylsulfides from garlic suppress the in vitro proliferation of human Asua lung tumor cells. Nutr. Cancer, (29):152-156.
[32].Yoshida, M.; Yamamoto, R. and Nikaido, T. (1992): Inhibition of mitosis by bunding to the cholchicine site of tubuline, cancer Res. (52): 6676-6681.
[33].Wei, R.; Chiang, H.; Fu, W.; Chine, K.; Chung, Y. and Horng, L. (1990): Formosanin C, an immunomodulator with antitumor activity. Int. J. Immunopharmacol. (12) : 777-786.
[34].Mukhtar, H.; Das, M.; khan, W.; Wang, Z.; Bik, D. and Bickers, D. (1988): Oncological phytotherapeutics. Cancer. Res. (48): 2361-2365.

جدول(١) المركبات الفعالة في المستخلصات النباتية المختلفة.

		حبة البركة			ثوم			صرماق	
المركب	الكاشف	مائي	كحولي	زيتي	مائي	كحولي	زيتي	مائي	كحولي
الكليكوسيدات	كاشف بندكت	راسب احمر	+	+	−	+	−	+	−
القلويدات	كاشف ماركيز	لون رصاصي محبب	+	+	−	+	−	+	−
التانينات	1. خلات الرصاص 1% 2. كلوريد الجديديك 1%	راسب ابيض هلامي راسب ابيض هلامي	+ +	+ +	− −	+ +	− −	+ +	+ +
الصابونين	1. الرج الشديد للمستخلص 2. كلوريد الزئبيق 1%	رغوة كثيفة راسب ابيض	+ +	− +	− −	− +	− −	+ +	− +
الفينولات	كلوريد الحديديك 1%	لون اخضر مزرق	+	+	+	+	+	+	+
الراتنجيات	ايثانول 95%+ماءمحمض Hcl 4%	عكسورة	−	+	−	+	−	−	+
التربين والستيرويد	كلوروفورم +حامض	لون بني لون ازرق داكن	+	+	+	+	+	+	+

الفلافونات	الخليك اللامائي KOHايثانول+	لون اصفر	+ +	+ +	+ −	+ +	+ +	+ −	+ +	+ +
	ورق ترشيح مرطبة ب +اشعةNaOH فوق البنفسجية	لون اصفر مخضر	−	+	−	−	+	−	−	+

جدول (٢) تأثير المستخلصات المائية في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء.

المعاملة	التركيز (µg/ ml)	معامل التحول الاروميي	معامل الانقسام الخيطي	معامل الزيغ الكروموسومي	التبادل الكروماتيدي الشقيق	معامل التضاعف	M1	M2	M3
حبة البركة مائي	0.0	36.09±0.015	0.204±0.02	0175±0.015	6.16±0.026	2.04	29	38	33
	0.1	37.66±0.123*	0.216±0.026	0.131±0.049*	6.04±0.025*	2.09	30	31	39
	1.0	38.59±0.234*	0.264±0.058*	0.117±0.055*	5.94±0.026*	2.06	29	36	35
	10	33.26±0.304*	0.196±0.036*	0.09±0.053*	4.8±0.065*	1.97	34	35	31
	100	28.18±0.023*	0.102±0.0.98*	0.08±0.01*	3.7±0.02*	1.87	41	31	28
	1000	20.4±0.606*	0.083±0.0085	0.0745±0.001 *	2.11±0.01*	1.66	53	28	19
ثوم مائي	0.0	36.09±0.015	0.204±0.02	0175±0.015	6.16±0.026	2.04	29	38	33
	0.1	38.09±0.072*	0.239±0.34*	0.184±0.015*	6.15±0.03	2.06	31	32	37
	1.0	38.5±0.103*	0.266±0.09*	0.173±0.026	5.43±0.061*	2.04	29	38	33
	10	31.45±0.31*	0.173±0.11*	0.152±0.04*	5.24±0.12*	1.98	33	36	31
	100	25.15±0.015*	0.164±0.03*	0.093±0.025*	5.006±0.04*	1.85	43	29	28
	1000	20.26±0.297*	0.075±0.02*	0.074±0.051*	4.73±0.252*	1.7	51	28	21
صرماق مائي	0.0	36.09±0.015	0.204±0.02	0175±0.015	6.16±0.026	2.04	29	38	33
	0.1	36.53±0.25	0.203±0.025	0.176±0.006*	5.77±0.153*	1.99	32	37	31
	1.0	36.79±0.161	0.213±0.025*	0.163±0.064*	5.45±0.08*	1.97	36	31	33
	10	31.74±0.031*	0.188±0.0258	0.163±0.0115	5.04±0.02*	1.78	47	28	25
	100	30.21±0.117*	0.175±0.03*	0.153±0.005*	4.72±0.32*	1.74	49	28	23
	1000	28.31±0.251*	0.074±0.03*	0.106±0.0153 *	4.303±0.107*	1.66	48	29	20

- كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات.
- *معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

جدول (٣) تأثير المستخلصات الكحولية في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء.

المعاملة	التركيز (µg /ml)	معامل التحول الارومي	معامل الانقسام الخيطي	معامل الزيغ الكروموسومي	التبادل الكروماتيدي الشقيق	معامل التضاعف	M1	M2	M3
حبة البركة كحولي	0.0	38.45±0.117	0.223±0.025	0.185±0.083	6.76±0.246	1.92	36	36	28
	0.1	35.2±0.02*	0.206±0.02*	0.175±0.085*	6.31±0.04*	1.80	41	38	21
	1.0	31.22±0.16*	0.175±0.025*	0.164±0.017*	6.03±0.09*	1.63	53	31	16
	10	28.1±0.26*	0.084±0.021*	0.154±0.015*	5.74±0.015*	1.58	57	28	15
	100	20.07±0.04*	0.055±0.026*	0.13±0.017*	5.32±0.025*	1.56	61	22	17
	1000	18.16±0.3*	0.031±0.011*	0.08±0.04*	5.12±0.015*	1.44	67	22	11
ثوم كحولي	0.0	38.45±0.117	0.223±0.025	0.185±0.083	6.76±0.246	1.92	36	36	28
	0.1	34.65±2.21*	0.154±0.015*	0.204±0.02*	6.52±0.24	1.78	45	32	23
	1.0	31.11±0.06*	0.13±0.021*	0.215±0.038*	6.36±0.07	1.74	49	28	23
	10	26.13±0.57*	0.091±0.087*	0.211±0.08*	6.07±0.04*	1.65	57	21	22
	100	18.78±0.15*	0.063±0.01*	0.179±0.06	5.71±0.101*	1.52	63	22	15
	1000	11.27±0.51*	0.027±0.011*	0.149±0.032*	5.58±0.163*	1.46	68	18	14
صرماق كحولي	0.0	38.45±0.117	0.223±0.025	0.185±0.083	6.76±0.246	1.92	36	36	28
	0.1	36.19±0.15*	0.208±0.026	0.183±0.025	6.6±0.025	1.73	48	31	21
	1.0	33.16±0.10*	0.172±0.04*	0.162±0.01*	6.4±0.036	1.66	53	28	19
	10	31.19±0.11*	0.126±0.04*	0.131±0.01*	5.27±0.058*	1.63	58	21	21
	100	27.36±0.25*	0.084±0.02*	0.093±0.025*	5.01±0.286*	1.67	56	21	23
	1000	21.57±0.06*	0.052±0.01*	0.0903±0.021*	4.00±0.01*	1.46	67	17	16

- كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات.
- *معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

جدول (٤) تأثير المستخلصات الزيتية لنباتي (حبة البركة و الثوم) في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء.

المعاملة	التركيز (µg /ml)	التحول الاروي	الانقسام الخيطي	الزيغ الكروموسومي	التبادل الكروماتيدي الشقيق	معامل التضاعف	M1	M2	M3
حبة البركة زيتي ميكانيكي	0.0	28.64±0.115	0.187±0.01	0.155±0.015	7.63±0.157	1.97	36	31	33
	0.1	31.17±0.485*	0.191±0.05	0.13±0.021*	6.16±0.05*	2.06	29	36	35
	1.0	33.41±0.14*	0.197±0.01*	0.108±0.06*	5.2±0.036*	2.22	25	28	47
	10	38.4±0.48*	0.209±0.02*	0.097±0.02*	4.36±0.05*	2.23	28	21	51
	100	38.78±0.115*	0.248±0.11*	0.067±0.03*	3.89±0.08*	2.54	12	22	66
	1000	39.6±0.095*	0.258±0.07*	0.035±0.03*	2.72±0.104*	2.49	19	13	68
حبة البركة زيتي كيميائي	0.0	28.64±0.115	0.187±0.01	0.155±0.015	7.63±0.157	1.97	36	31	33
	0.1		0.191±0.095	0.151±0.045	7.16±0.128*	2.04	33	30	37
	1.0	30.137±0.07*	0.194±0.037*	0.145±0.031*	6.15±0.025*	2.20	26	28	46
	10	33.26±0.29*	0.202±0.026*	0.125±0.031*	5.71±0.051*	2.24	25	26	49
	100	36.45±0.05*	0.227±0.015*	0.08±0.01*	5.5±0.13*	2.32	24	20	56
	1000	36.98±0.102*	0.238±0.02*	0.074±0.027*	3042±0.33*	2.42	20	18	62
		38.47±0.704*							
حبة البركة زيتي طيار	0.0	28.64±0.115	0.187±0.01	0.155±0.015	7.63±0.157	1.97	36	31	33
	0.1	34.73±0.112*	0.286±0.03*	0.098±0.082*	5.28±0.02*	2.11	28	33	39
	1.0	37.6±0.1*	0.304±0.04*	0.079±0.03*	5.04±0.017*	2.13	28	31	41
	10	58.46±0.12*	0.354±0.07*	0.0516±0.05*	4.103±0.021	2.33	16	35	49
	100	60.7±0.42*	0.353±0.075*	0.0	*	2.54	4	38	58
	1000	62.5±0.257*	0.367±0.09*	0.0	3.43±0.175*	2.53	8	31	61
					2.7±0.021*				

	0.0	28.64±0.115	0.187±0.015	0.155±0.015	7.63±0.157	1.97	36	31	33
	0.1	21.52±0.055*	0.074±0.0115	0.162±0.0058	7.5±0.1	1.93	35	37	28
	1.0	18.45±0.015*	*	*	7.03±0.021*	1.91	39	31	30
ثوم زيتي	10	16.53±0.075*	0.067±0.01*	0.166±0.01*	7.81±0.01*	1.86	46	26	28
	100	10.36±0.064*	0.027±0.0115	0.168±0.006*	0.0	0.0	0 .0	0 .0	0 .0
	1000	6.25±0.031*	* 0.0	0.0	0.0	0.0	0 .0	0.0	0
			0.0	0.0					.0

- **كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات.**
- ***معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .**

جدول (٥) تأثير مزيج المستخلصات المائية و الكحولية للنباتات الثلاثة في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء.

المعاملة	التركيز (µg/ml)	التحول الاروميي	الانقسام الخيطي	الزيغ الكروموسومي	التبادل الكروماتيدي الشقيق	معامل التضاعف	M1	M2	M3
(حبة البركة + ثوم + صرماق) مائي	0.0	46.07±0.24	0.267±0.04	0.251±0.05	7.41±0.85	1.79	45	31	24
	0.1	45.47±0.158*	0.235±0.036*	0.235±0.02	6.73±0.047*	1.66	53	28	19
	1.0	42.7±0.025*	0.202±0.032*	0.187±0.109*	6.51±0.04*	1.45	67	21	12
	10	38.1±0.036*	0.195±0.036*	0.174±0.026*	6.29±0.09*	1.39	69	23	8
	100	29.7±0.1*	0.171±0.026*	0.159±0.084*	5.08±0.065*	1.37	69	25	6
	1000	23.69±0.09*	0.0867±0.03*	0.121±0.01*	4.88±0.07*	1.4	71	18	11
(حبة البركة + ثوم + صرماق) كحولي	0.0	46.07±0.24	0.267±0.04	0.251±0.05	7.41±0.85	1.79	45	31	24
	0.1	41.99±1.207*	0.228±0.284*	0.228±0.092*	6.73±0.118*	1.6	56	28	16
	1.0	18.15±0.355*	0.0316±0.01*	0.027±0.01*	5.32±0.171*	1.23	78	21	1
	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0
	100	0.0	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0
	1000	0.0	0.0	0.0	0.0	٠	0	0	0

- **كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات.**
- ***معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .**

جدول (٦) تأثيرالمستخلصات الالكلويدية للنباتات الثلاثة في الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء.

المعاملة	التركيز (µg/ml)	التحول الاروميي	الانقسام الخيطي	الزيغ الكروموسومي	التبادل الكروماتيدي الشقيق	معامل التضاء ف	M1	M2	M3
حبة البركة الكلويد	0.0	41.94±0.013	0.24±0.153	0.174±0.049	7.3±0.1002	1.76	43	38	19
	0.1	37.49±1.24*	0.152±0.05*	0.153±0.03*	6.23±0.055*	1.76	48	28	24
	1.0	31.55±0.33*	0.134±0.06*	0.148±0.032*	6.06±0.04*	1.68	53	26	21
	10	28.87±0.73*	0.107±0.12*	0.130±0.017*	5.116±0.101*	1.65	57	21	22
	100	21.7±0.015*	0.076±0.015*	0.095±0.035*	4.9±0.28*	1.4	66	28	6
	1000	16.46±0.485*	0.047±0.021*	0.073±0.01*	4.06±0.01*	1.38	68	26	6
ثوم الكلويد	0.0	41.94±0.013	0.24±0.153	0.174±0.049	7.3±0.100	1.76	43	38	19
	0.1	37.16±1.61*	0.217±0.09	0.166±0.05*	7.2±0.22	1.76	51	22	27
	1.0	33.28±0.58*	0.173±0.07*	0.153±0.011*	7.09±0.36	1.67	56	21	23
	10	31.14±0.67*	0.156±0.053	0.132±0.06*	6.97±0.38*	1.57	58	23	19
	100	28.06±1.51*	0.109±0.011*	0.103±0.03*	6.83±0.105*	1.57	61	21	18
	1000	26.07±1.32*	0.107±0.021*	0.102±0.008*	6.51±0.106*	1.44	65	17	18
صـــرماق الكلويد	0.0	41.94±0.013	0.24±0.153	0.174±0.049	7.3±0.100	1.76	43	38	19
	0.1	40.4±0.574*	0.217±0.015*	0.164±0.036	7.15±0.128	1.68	52	28	20
	1.0	37.19±0.075*	0.184±0.02*	0.149±0.032*	6.71±0.188*	1.69	55	21	24
	10	34.35±0.303*	0.164±0.02*	0.143±0.023*	6.45±0.07*	1.62	58	22	20
	100	31.75±0.084*	0.093±0.026*	0.1103±0.017*	6.24±0.04*	1.53	63	21	16
	1000	28.82±0.19*	0.074±0.031*	0.094±0.035*	6.11±0.1002*	1.41	57	29	14

- **كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات.**
- ***معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .**

جدول (7) تأثير تراكيز مختلفة عن المستخلصات الفلافينويدية لنباتات (حبة البركة و الثوم و الصرماق) على الخلايا اللمفاوية لاشخاص اصحاء

المعاملة	التركيز (µg /ml)	التحول الارومي	الانقسام الخيطي	الزيغ الكروموسومي	التبادل الكروماتيدي الشقيق	معامل التضاعف	M1	M2	M3
حبة البركة فلافينويد	0.0	40.216±0.051	0.234±0.029	0.174±0.053	6.44±0.031	1.87	46	21	33
	0.1	38.49±0.17*	0.186±0.0101*	0.164±0.02*	5.58±0.064*	1.74	53	20	27
	1.0	33.5±0.02*	0.152±0.051*	0.146±0.015*	5.26±0.04*	1.63	58	21	21
	10	28.17±0.017*	0.079±0.049*	0.124±0.085*	4.76±0.06*	1.55	63	19	18
	100	18.29±0.35*	0.051±0.015*	0.029±0.04*	4.58±0.16*	1.46	67	20	13
	1000	10.34±0.148*	0.029±0.032*	0.082±0.04*	4.16±0.15*	1.40	69	22	9
ثوم فلافينويد	0.0	40.216±0.051	0.234±0.029	0.174±0.053	6.44±0.031	1.87	46	21	33
	0.1	35.31±1.42*	0.182±0.047*	0.165±0.021*	6.321±0.055*	1.77	50	32	27
	1.0	33.37±0.49*	0.152±0.055*	0.144±0.021*	6.09±0.025*	1.62	55	28	17
	10	31.11±0.10*	0.128±0.055*	0.122±0.01*	5.73±0.044*	1.52	63	22	15
	100	28.17±0.592*	0.112±0.045*	0.108±0.025*	5.54±0.08*	1.50	67	16	17
	1000	21.64±0.096*	0.05±0.032*	0.094±0.06*	5.186±0.058*	1.46	68	18	14
صرماق فلافينويد	0.0	40.216±0.051	0.234±0.029	0.174±0.053	6.44±0.031	1.87	46	21	33
	0.1	37.32±0.312*	0.192±0.04*	0.173±0.03	6.08±0.03*	1.73	48	31	21
	1.0	35.43±0.115*	0.161±0.15*	0.165±0.025*	5.83±0.07*	1.63	56	20	24
	10	33.47±0.143*	0.135±0.015*	0.145±0.026*	5.63±0.25*	1.55	61	23	16
	100	31.13±0.157*	0.096±0.025*	0.095±0.027*	5.47±0.138*	1.48	67	18	15
	1000	28.47±0.316*	0.076±0.01*	0.087±0.015*	5.23±0.426*	1.48	68	16	16

- كل قراءة تمثل الوسط الحسابي ± الخطأ القياسي لثلاث مكررات.
- معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .