تعديل التاثيرات الوراثية لعقار المايتومايسين C باستعمال المستخلص المائي لنبات العدس

Modulating the Mutagenic Effects of Mitomycin C by Aqueous Extract of Lentil (*Lens culinars*)

محمد محمود فرحان الحلبوسى
مركز بحوث التقنيات الاحيائيه / جامعة النهرين

M. M. F. Al- Halbosiy
Biotechnology Research Center/ Al-Nahrain University

المستخلص:
هدف البحث الى تقيم التاثيرات السمية والتطفيرية للمستخلص المائي لبذور نبات العدس (1.5 ، 1.0 ، 0.5 ملغم/كغم) ومقدرته على تثبيط التاثيرات التطفيرية لعقار مايتومايسين C باستعمال ذكور الفئران البيض بالاعتماد على التحليلات الدمية والوراثية الخلوية (العدد الكلي لخلايا الدم البيض , معامل الانقسام الخيطي , تكون النوى الصغيرة والانحرافات الكروموسوميه لخلايا نقي العظم) .تم تقييم المستخلص النباتي من خلال ثلاثة انواع من المعاملات ، في المعاملة الاولى جرع المستخلص النباتي لوحدة عن طريق الفم و في المعاملتين الثانية والثالثة قيم التداخل ما بين المستخلص النباتي والعقار مايتومايسين C من خلال نوعين من التداخل (قبل وبعد العقار) وذلك لاختبار فعالية المستخلص المائي لبذور نبات العدس في منع او تقليل الاثر السمي الوراثي للعقار . وقد اظهرت الدراسة انعدام التأثيرات السمية و التطفيرية للمستخلص النباتي وكان للجرعة 1.5 ملغم /كغم تعزيز معنوي واضح لقيم الفحوصات المدروسة . كما اظهرت الدراسة وجود كفاءة تثبيطية للمستخلص تجاه التأثيرات التطفيرية للعقار من خلال رفع قيم العدد الكلي لخلايا الدم البيض ومعامل الانقسام وخفض نسبة الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة عند المعاملة قبل وبعد العقار .

Abstract
The present study aimed to evaluate the toxic and mutagenic effect of Lentil (*Lens culinars*) seed aqueous extract (0.5 , 1.0 and 1.5 mg/kg) and its ability to modulate the mutagenic effects of mytomycin C, using the male albino mice for hematological and cytogenetic analyses (total leukocyte count and mitotic index, chromosomal aberration and micronucleus formation of bone marrow cells). The evaluations were carried out through three type of treatment. In the first treatment the extract was dosed alone to the animals, while in the second and third treatment, interaction between the extract and mytomycin C (pre and post treatment) were carried out for such evaluations. The study showed that there was no toxic and mutational effects of the used extract .The result also showed that the dose 1.5mg/kg was significantly better than the other doses in all tests that were carried. The result also showed that there was aninhibition effect of the extract in relation to the mutational effects of mytomycin C. through its effects in increasing the total leukocyte count and mitotic index and reducing in chromosomal aberration, micronucleus formation before and after the drug application.

المقدمة :

سلطت الدراسات الحديثة الضوء على اهمية النباتات الطبية في تثبيط فعل المواد المطفرة باعتبارها مواد مضادة للتطفر ، وكذلك شملت دراسة آلية الانقسام الخلوي والدور الذي تلعبه المستخلصات النباتية في تقليل التشوهات الوراثية الحاصلة [1] . ومن الامراض البشرية ، التي هي تثير اهتمام الباحثين في هذا المجال هي الاورام السرطانية وذلك لتزايد نسبة الاصابة بها مع تقدم تقنيات الحياة المعاصرة ولما يلعــبه التلوث البيئي في تعزيز فعل عوامل الاصابة بها[2] ، وبالاخص اذا اخذنا بالحسبان ان الطفرات الجينية والكروموسومية هي من العوامل المهمة في حدوث السرطان [3] . قد ياتي دور النباتات الطبية هنا في تثبيط فعل المواد المطفرة والمسرطنة باعتبارها مصادر طبيعية امينة ، حيث اثمرت الجهود العلمية في الحصول على الكثير من المركبات الكيميائية المستخلصة من النباتات الطبية والتي تستخدم حاليا في علاج الاورام السرطانية[4 ، 5] . واستكمالا لهذا المنهج فقد اختير في الدراسة الحالية نبات العدس *Lens culinaris* حيث يمتاز هذا النبات باحتوائه على الكثير من المركبات الفعالة مثل الكلايكوسيدات (Glycosides) والفلافونويدات (Flavonoids) والتانين (Tannin) والكافيين (Caffeine) و Luteolin و Catechins ومشتقات الفلافونديدات (Flavonoids derivatives) و (Tricetin) و -5 Deoxykaempferol, وفيتـاميـن C والعنــاصـر النـــزره (Trace elements) والسلينيوم (Selenium) [6 ، 7] ذات الفعالية المضادة للاكسدة Anti-oxidants والمضادة للتطفير Anti-mutagenic [8 ، 9] . وفي ضوء ذلك صممت هذه الدراسة بهدف اختبار قدرة المستخلص المائي لنبات العدس في التاثير على مستوى الطفرات المستحثة بواسطة العقار مايتومايسين سي(Mitomycin C) في الفار الابيض ومن خلال بعض الاختبارات والتي شملت العدد الكلي لخلايا الدم البيض ومعامل الانقسام ومعدل الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيره في خلايا نقي العظم .

المواد وطرائق العمل:

1. **الحيوانات المختبرية :** استخدمت ذكور الفارالابيض (*Mus musculus*) باعـمـــار بيـــن 9-10 اسبوع والتي جهزت من قبل البيت الحيواني لمركز بحوث التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين . وزعت الحيوانات في اقفاص لدائنية بهيئة مجاميع وحسب حاجة التجربة وقد تم اعطاء الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة والمصنعة محليا .
2. **استخلاص النبات:** أخذ المستخلص المائي لبذور نبات العدس وحسب طريقة [10] حيث تم اخذ 50 غم من بذورالنبات ووضعت في خلاط كهربائي مع 100 مل من الماء المقطر المعقم ومن ثم مزجت المكونات جيدا لمدة 15دقيقة ، بعد ذلك رشح المستخلص الناتج باستخدام الشاش الطبي ومن ثم استخدام ورق الترشيح Whatman No.2 , ثم بخر الراشح باستخدام المبخر الدوار (Rotary-evaporator) تحت حرارة 40مْ الى ان جف النموذج , بعد ذلك اذيب المستخلص الناتج (بعد وزنه) في حجم معلوم من داريء الفوسفات الفسيولوجي وعد هذا المحلول محلول الاصل (Stock solution) والذي حفظ في الثلاجة 4مْ ومن ثم حضرت التخافيف المطلوبة وحسب حاجة التجارب .
3. **تصميم التجارب:** استخدم مستخلص العدس بثلاث جرع (0.5 , 1.0 , 1.5) ملغم/كغم وكان التجريع عن طريق الفم (Orally) وحجم الجرعة الواحده (0.25) . مل ولغرض دراسة القابليةالتطفيرية للمستخلص النباتي خصص 15 فار وبمعدل 5 فئران لكل جرعة من الجرع الثلاث ، حيث جرع كل فار بـا لمستخلص يوميا لمدة 7 ايام متتاليه وفي الوقت نفسه جرعت 5 فئران بدارئ الفوسفات الفسيلوجي لمدة 7 ايام وعدت كسيطرة سالبة . شرحت الحيوانات في اليوم الثامن لغرض اجراء الاختبارات المطلوبة . كذلك تم تجريع خمسة فئران اخرى بـالمطفر المايتومايسين C (50 ملغم /كغم) ولكنها شرحت بعد مرور 24 ساعة وعدت كسيطرة موجبة . ولغرض دراسة اثر التداخل ما بين المستخلص والمطفر فقد جرعت الحيوانات بالجرع المنوه عنها انفا بطريقتين ، حيث كانت الاولى اعطاء المستخلص قبل المطفر (المعاملة قبل) والثانية كانت باعطاء المستخلص بعد المطفر (المعاملة بعد) . ففي دراسة المعاملة بالمستخلص النباتي قبل المطفر جرع 15 فـــــــــار بـالمستخلص النباتي يوميا ولمدة ستة ايام متتالية وفي اليوم السابع جرعت الفئران بالمطفر مايتومايسين C وشرحت في اليوم الثامن . وفي دراسة المعاملة بالمستخلص النباتي بعد المطفرخصص ايضا 15 فارا جرعت بـالمطفر المايتومايسين C وبعد 24 ساعة من وقت التجريع جرعت بـالمستخلص النباتي ولمدة ستة ايام متتالية ثم شرحت في اليوم الثامن وكان لكل معاملة سيطرتها الخاصة ، بحيث استبدل فيها المستخلص النباتي بمحلول داريء الفوسقات الفسيوليجي .

4. **طرائق العمل :** بعد انتهاء الفترة التجريعية لكل حيوان ، قطع طرف ذنب الفار للحصول على قطرات من الدم والتي استخدمت في العد الكلي لخلايا الدم البيض [11] . بعد ذلك حقن الحيوان في منطقة الخلب (Peritone) بـ 0.25 مل من محـلول الكولجيـسين (10ملغم/كغم) وبعد مرور ساعة ونصف شرح الحيوان للحصول على خلايا نقي العظم من خلال استخراج نقي العظم بوساطة دفع 5 مل من محلول دارىء الفوسفات الفسلجي والتأكد من الحصول على جميع خلايا النخاع ، وبعد غسل الخلايا ثم تعليقها في محلول كلوريد البوتاسيوم الواطئ التوتر لمدة (30) دقيقة , ثم ثبتت الخلايا في مثبت (كحول الميثانول - حامض الخليك الثلجي بنسبة 1:3 حجم/ حجم) لمدة 30 دقيقة ، عند ذلك حضرت شرائح من هذه الخلايا ولونت بملون كمزا Giemsa stain . استخدمت هذه الشرائح في حساب معامل الانقسام ومعدل الانحرافات الكروموسومية [12] كما شرحت حيوانات اخرى غير محقونة بمحلول الكولجسين ودلك للحصول على خلايا نقي العظم والتي استخدمت في حساب معدل النوى الصغرى [13] .
5. **التحليل الاحصائي :** تم تنفيذ التجارب حسب التصميم العشوائي الكامل (CRD) باستخدام البرنامج الاحصائي Statistical Analysis System(SAS) واستخدام اختبار دانكن لتحديد الفروقات بين معدلات المعاملات وعلى مستوى احتمالية≥0.05 .

النتائج والمناقشة :

اظهرت النتائج التاثير الواقي للمستخلص المائي لبذور نبات العدس من خلال بعض الاختبارات تجاه التاثيرات السمية والتطفيرية للمطفر مايتومايسين سي ، حيث اظهر المستخلص المائي لبذور نبات العدس تاثيرات متباينة في معامل انقسام الخلايا لنقي العظم في الفئران المجرعة بهِ وباختلاف الجرعة فقد ادت الجرعتان 1.0 – 1.5 ملغم/كغم زيادة في نسب معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم وكانت الزيادة مقترنة بزيادة تركيز الجرعة ، وقد شكلت هذه الزيادة فرقا بدلالة احصائية (أ≥0.05) عند المقارنة مع السيطرة السالبة وحسب ماهو موضح في الجدول (1) كذلك اوضحت النتائج وجود فروقات ذات دلالة احصائية عند المقارنة ما بين السيطرة السالبة والموجبة . اما بالنسبة لمعدل الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة ، لم تظهر نتائج المعاملة بالمستخلص المائي لبذور نبات العدس وبجرعه الثلاث اي فعالية في استحثاث الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم للحيوانات المجرعة ، بل على العكس اظهرت تلك الجرع القدرة في خفض التردد التلقائي لهما ، حيث اظهرت النتائج بان التثبيط كان معنويا للجرع الثلاث، وعلى العكس من ذلك فقد اظهرالمطفرمايتومايسين سي قابلية تطفيرية واضحة من خلال استحثاث الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في السيطرة الموجبة . كذلك اوضحت النتائج بان جرع المستخلص المائي لبذور نبات العدس كانت فعالة في رفع معدل عد خلايا الدم البيض معنويا بالمقارنة مع السيطرة الموجبة وكما موضح في الجدول ادناه .

جدول (1) : تأثير الجرع المختلفة من مستخلص بذور العدس المائي في العدد الكلي لخلايا الدم البيض و النسبة المئوية لمعامل الانقسام والانحرافات الكروموسومية والنوى الصغيرة لخلايا نقي عظم الفار

المجاميع		المتوسط الحسابي (±) الخطأ القياسي			
		العدد الكلي لخلايا الدم البيض (خلية/ملم^3 دم)	معامل الانقسام الخيطي MI%	الانحرافات الكروموسومية CA%	النوى الصغيرة (MN/ 1000 cells)
السيطرة السالبة		6.98 ± 0.09 a	12.3 ± 0.12 a	0.9 ± 0.09 a	0.52 ± 0.06 a
السيطرة الموجبة		3.48 ± 0.14 b	7.3 ± 0.09 b	6 ± 0.13 b	13.1 ± 0.09 b
مستخلص العدس	0.5 ملغم/كغم	7.94 ± 0.08 a	14.1 ± 0.14 a	1.0 ± 0.2 a	0.32 ± 0.03 c
	1.0 ملغم/كغم	9.06 ± 0.08 c	19 ± 0.15 c	1.2 ± 0.08 a	0.32 ± 0.6 c
	1.5 ملغم/كغم	9.42 ± 0.19 c	23.06 ± 0.12 d	1.1 ± 0.03a	0.31 ± 0.08 c

الاحرف المختلفة : فرق معنوي(أ ≥0.01) بين معدلات العمود الواحد

يتضح من خلال هذه النتائج عدم امتلاك المستخلص المائي لبذور نبات العدس تاثيرات سمية وراثية او مطفرة وبالجرع المستخدمة ، وان زيادة جرعة المستخلص قد خفضت التردد التلقائي لمعدل الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم للحيوانات المجرعة بها وهذا يعني بان المستخلص لم يستحث تكون الطفرات وبذلك لا يعد مطفرا ويمكن استخدامه بامان وتتفق هذه النتائج مع الكثير من الدراسات التي اشارت الى خلو المستخلصات النباتية من التاثيرات السمية والوراثية بل اشارت بعض البحوث الى احتوائها على مواد محفزة لعملية الانقسام الخيطي [14،9] . وقد يعود السبب في ذلك لاحتواء مستخلص بذور نبات العدس على العديد من المركبات الايضية الثانوية الفعالة التي قد يكون لها دور مباشر وغير مباشر في ذلك التاثير , حيث ان لهذه المركبات الفعاله دوراً كبيراً في الاتحاد مع المطفرات والمسرطنات مكونه معقدات يصعب امتصاصها موفرة الحماية للكائن الحي المتعرض لها [15،16] . ويمتلك نبات العدس الكثير من المركبات المضادة للسرطنة (Anticancer) والاكسدة (Antioxidant) والتي يمكن ان تـؤدي دوراً فـي الوقاية مـن السرطـــــان (Cancer prevention) مثل فلافونويدات والتانين و Luteolinو Catechins وغيرها [17] . كما اظهرت النتائج الموضحة في الجدولين (1،2) ان العقار مايتومايسين C يسبب تاثيرات سمية وتطفيرية من خلال خفض نسبة معامل الانقسام الخيطي وزيادة الانحرافات الكروموسومية واستحثاث تكون النوى الصغيرة وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل اليه [18] .

وعند اجراء التداخل جدول (2) بين المستخلص المائي لبذور نبات العدس والمطفر مايتومايسين C وبهيئة (المعاملة قبل) اوضحت النتائج ان المعاملة ادت الى زيادة نسبة معامل الانقسام الخيطي وبالجرع الثلاث ، وبينت نتائج التحليل الاحصائي ان نسبة الزيادة كانت ذات دلالة معنوية عند المقارنة مع السيطرة الخاصة بها ، كما اوضحت المعاملة ان المستخلص اظهر كفاءة عالية في خفض نسبة الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة واظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان نسبة الانخفاض كانت ذات دلالة احصائية وللجرع الثلاث المستخدمة . اما فيما يخص اثر التداخل في المعامله بعد بين المستخلص المائي لبذور نبات العدس والمطفرمايتومايسين سي ، اظهرت النتائج ارتفاع نسبة معامل الانقسام الخيطي وبالجرع الثلاث وبدلالة معنوية عند المقارنة مع السيطرة الخاصة بها . كما اوضحت ان المستخلص اظهر كفاءة تثبيطية عالية من خلال خفض نسبة الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة وبدلالة احصائية عند المقارنة مع السيطرة الخاصة بها ، كما اظـــهرت النتـــائج ان كلا النوعين من التداخل (قبل وبعد) كانا فاعلين في تعزيز قيم عدد خلايا الدم البيض وان الجـــرعة 1.5 ملغم/كغم كانت الافضل وكما هو موضح في الجدول (2) .

جدول (2) : تأثير التداخل بين الجرع المختلفة من مستخلص بذور العدس المائي والعقار MMC في العدد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية لمعامل الانقسام والانحرافات الكروموسومية والنوى الصغيرة لخلايا نقي عظم الفار

المجاميع		المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي			
		العد الكلي لخلايا الدم البيض (خلية/ملم^3 دم)	معامل الانقسام الخيطي %MI	الانحرافات الكروموسومية %CA	النوى الصغيرة (MN/1000 cells)
PBS + MMC		0.07 ± 4.1 a	0.13 ±7 a	0.15 `± 5.9 a	0.09 ± 13 a
المستخلص النباتي ملغم /كغم + MMC	0.5	0.03 ± 5.80 b	0.1 ± 8 a	0.2 ± 4.1 b	0.09 ± 6 b
	1.0	0.09 ± 6.37 b	0.13 b±14.1	0.08 ± 3.02 b	0.07 ± 5.1 b
	1.5	0.08 ± 8.72 c	0.09 c±16.02	0.1 ± 1.08 c	0.07 ± 3.1 c
MMC + PBS		0.03 ± 4.16 a	0.013 ± 6 a	0.012 ± 6.1 a	0.07 ± 12.1 a
MMC + المستخلص النباتي ملغم / كغم	0.5	0.19 ± 4.96 a	0.1 ± 8.9 b	0.13 ± 4.1 b	0.09 ± 6.04 b
	1.0	0.04 ± 5.65 b	0.14 c±13.04	0.05 ± 4.1 b	0.06 ± 5.1 b
	1.5	0.05 ± 7.46 c	0.19 ± 14 c	0.09 ± 2.02 c	0.06 ± 5.2 b

الاحرف المختلفة : فرق معنوي(أ ≥0.01) بين معدلات العمود الواحد

ان اجراء التداخل بين المستخلص والمطفرمايتومايسين C (قبل وبعد) يساعد في اعطاء تفسير للالية التي تعمل من خلالها المثبطات ومدى فعاليتها المضادة للتطفر , وبصورة عامة فالمثبطات التي تكون فعالة في حالة المعاملة (قبل المطفر) مثبطات مباشرة للمطفر (Desmutagens) اذ انها تثبط عمل المطفر كيميائياً بتكوين معقد مع المادة المطفرة

او احد تأيضاتها من خلال تنشيط الانزيمات التي تساعد فى تأيض المادة المطفرة بصورة غير مباشرة او زيادة انزيمات ازالة السمية المتواجده بصورة طبيعية في الجسم . اما المثبطات التي تعمل بعد اضافة المطفر فهي تعمل على زيادة دقة عملية استنساخ الدنا وزيادة كفاءة انظمة الاصلاح [19،20] . ويلاحظ من خلال النتائج الموضحة في الجدول (2) بان مستخلص نبات العدس قد ادى الى رفع معدل الانقسام الخيطي اي باستطاعته ازالة الاثر السمي للمطفر مايتومايسين C من خلال تحفيز الخلايا على الانقسام وكذلك اظهر المستخلص كفاءة ملحوظة في خفض نسبة الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في المعاملة قبل وبعد المطفر وعلى هذا الاساس يعد مستخلص نبات العدس مثبط للطفرات تحت صنف المثبطات المباشرة بالدرجة الاولى وبالدرجة الثانية مضاداً للتطفر من الصنف الحيوي لانه كان اقل فعالية في خفض الانحرافات الكروموسومية والنوى الصغيرة في المعاملة بعد المطفر . ويمكن ان تعزى آلية التثبيط الى احتواء مستخلص بذور نبات العدس عدد من المركبات الفعالة ومنها الفلافونويدات والتي شخص لها العديد من الوظائف الحياتية المهمة ، اذ انها تمتلك فعالية مضادة للتطفر والاكسده ومحورة لفعل الانزيمات , حيث تستحث هذه المركبات عمل انزيم Glutathione – S- Transferase (GST) حيث يعد عاملاً خلويا مهما ضد المركبات السامة والمطفرة والمسرطنة [21،22] هذا فضلاً عن امتلاكها صفة كسح الجذور الحرة الفعالة والمتولدة من تايض المواد المطفرة[1] بالاضافة الى ذلك فقد شخصت العديد من المركبات الطبيعية التي تعمل على زيادة دقة عملية تكرارالدنا وزيادة كفاءة عملية الاصلاح من خلال استحثاث الاصلاح الخالي من الخطأ مثل مركب Tannic acid وهو Hydrolytic Products كما وجد ان مركبات الفلافونويدات تعمل كعوامل غالقة (Blocking agents) تمنع وصول المطفر الى الجزيئةالمستهدفه [23،24] ، فضلا عن احتواء هذا المستخلص النباتي على السيلينيوم و Luteolin الذين اظهرا قدرة مضادة للتطفر من خلال تثبيط التنشيط الايضي للمركبات المطفرة التي تحتاج الى سلسة من الفعاليات الايضية لتظهر فعاليتها التطفيرية[7،25] ، كما ان لوجود فيتامين C وهو من الفيتامينات المطلوبة للجسم بشكل مستمر فضلا عن مساهمته في العديد من العمليات الايضية وقابليته على كسح الجذور الحرة التي يمكن ان تؤدي في النهايه الى حدوث الطفرة [26] .

يتضح من خلال هذه الدراسة ان المستخلص المائي لبذور نبات العدس يحوي العديد من المركبات الكيميائية ذات الدور الوقائي في تثبيط ومنع الطفرة حيث اظهر المستخلص المائي لبذور نبات العدس كفاءة تثبيطية عالية تجاه المطفرمايتومايسين C .

المصادر:

1. Ssamejime, K.; kanazawa, K.; Ashida, H. and Danno, G. (1998). Bay laural contains ant antimutagenic kaempferal coumarate against the dietary carcinogen 3-amirio -1-methyl – 5H-pyrido (4,3-10) indol (trp-p-2).J. Agric food chem., 46: 4864-68.
2. Wakaboyashi, Nagao, M.; Esumi, H. and Sugimura, T. (1992) food- derived mutagens and carcinogen. Cancer Res. 52: 2092s- 2098s.
3. Shovlin, C.L.; lamb, J.R. Haslett, C. (1999). The molecular and cellular basis of disease in: Haslett, C.; Chilvers, R.E.; Humter, A.J. boon,A.N. (eds.). davidsons peincples and practice of medicine 18th ed. Char chil living ston, new rorkt 1-56.
4. Picuric-Jovonovic, K.; Miloranovic, M. and Vrbaski, Z. (1995) thymus Vulgaris as a source of natural lipids anti-oxidans. Fac.Agric; 40:14-16.
5. Harvey,A.(2000). Strategies for discovering drugs from previously unexplorel product. Drug Discov. Today, 5:294-300.
6. Sosulski, F. W. ; Dabrowski ,K.J. (1984).Composition of free and hydroly-zable phenolic acids in the flours and hulls of ten legume species. J. Agric. Food. Chem. , 32:131-133.
7. Tharajah, D.; Vandenbarg, A.; George, G.N. and Pickering, J. (2007) chemical from of selenium in naturally selenium-rich lentil, Clens (ullnaris) from Saskatchewan. J. Agric. Food. Chem., 55(18): 7337 -41.

8. Katz, A.E. (2000). Flavonoid and botanical approaches to prostate helath. J.Altern. Complement. Med., 8:813-821.
9. Al-Halbosiy, M.M.F.; Al-Jumaily, R. M. Kh and Ad'haih, A.H. (2007). Modulating the mutahenic effect of mitomycin C by aqueous extract of Alhagi graecorum. Ibn-Al-Haithem J. Pure and Appl.Sci. Vol.20 (2)
10. Ito, Y.; Maeda, S. and Sugiyama, T.(1986). Suppression of 7,12-dimethy benz (a) anthracenc induced chromosome a berration in ral bone marrow call dy vegetable juices. Mutation Res., 172:55-60.
11. Sood, R. (Editor) (1985). Heamatology for students and Practitionere JAYPEE BROTHERS, India.
12. Shubber, E.K. and Al-Allak, B.M.A. (1986). Spontaneous frequesncies of chromosome and sister chromatid exchange in human lymphocytes. II, effect of serum incubation time and blood storage. Nucleus, 30:21- 28.
13. Schmid, W. (1976). The cell micro nucleus test for cytogenet analysis.In: Hollaender, A. (Ed). hemical mutagens principles and Methods for their Deldction. Volume four. Plenum press New york and London, pp. 31: 53.
14. Ad'hiad, A. H.; Syhood, Y. D. and Shubber,E.K. (2004). Inhibiting the heamatologic and cytogenetic effects of tamoxifen by alcoholic extract of garlic (Allium sativam). Nucleus, 47:10-16.
15. Deflora, S. and Ramel, C. (1988). Mechanisms and carcinogenesis classification and over view. Mutation Res.; 202: 285-06.
16. Negishi, F.; Nakano, Kitawiura, A.; Itome, C.; Shiotanic, T. and Hayotsu, H. (1994). Inhibitory activity of chlorophyllin on the genotoxicity of careinogens in Drosophila. Cancer latt. 83: 157-164.
17. Duke, J. A. (Editor) (1992). Handbook of phytochemical constituerts of GRAS Herbs and other Economic plants.(2nd ed.).CRC press, Boca Raton, Fla. U.S.A.
18. Oll, C. D.; Weiss, R. B. and Itssell, B.F. (1984). Mitomycin ten year after approvar for marketing. J.Clin. Oncol. 3: 276-286.
19. Ramel, C.; Alekperov, V.; Amoes, B. A., kade, T. and Watteenberg , L.W. (1986). Inhibitors of mutagesis and their relerance to carcinogensis. Mutat. Res.; 168: 47-65.
20. Erbo, D.; Riso; P.; Colombo, A. and Testolin, G. (1999). Supplementation of Jurkat Tcells eith green tea extract decreases ozidative damage due to iron treatment J. Nutr. 129: 2130-2134.
21. Kettere, B. (1988) . protective rola of glutathione and glutathione transferases in mtagenesis and carcinogenesis. Mutation Res. 202:343-361.
22. Morre, D.J.; Morre, D.M.; sun, Hi.; cooper R., change, J. and Janle, E. M. (2003). Tea catechin synergies specific cell surface oxidese (ECTO-Nox). Pharmocal toxical. 92(5): 234-41.
23. Yang, C. and wang, z. (1993) tea and cancer. J. natl. cancer Inst.; 85: 1038-1049.
24. Schimmer, O. and lindenbaum, M. (1995). Tannins with antimutagenic properties in the herb of Alchemilla species and potentilla anserine. Planta Med.; 61: 141-145.

25. amejima, K.; kannazawa, k.; Ashida, H. and Danno, G. (1995). Luteolin a strong antimitage against dietary carcinogen 3- amino -1- methyl – 5H- pyrido [4,3,10] indole (Trp-p-2). J. Agcic. Food chem., 46: 4864- 68.
26. Rosenthal, D. and Ades, T. (2001) complementary and alteranative Methods. CA. cancer. Clim. 51:316-320.