جامعة القادسية

كليـــــــــــــة التربية

قسم علوم الحياة

بحث تخرج بعنوان

دراسة الفعالية التثبيطية للمحلول المائي للقهوة ضد العقاقير المطفرة وراثيا

بحث تخرج مقدم الى قسم علوم الحياة ، كجزء من

متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

تقدم به الطلبة

علاء عامر عبد علي **ضحى جاسم محمد**

بأشراف الدكتورة

فرات عبد الحمزه هادي

2018 **1439**

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية للكشف عن تاثير المحلول المائي للقهوة في تثبيط التأثيرات السامة والمطفرة للعقار ميثوتروكسيت (MTX) وهو احد العقاقير المستخدمة في العلاج الكيمياوي للسرطان حيث أُختبرت ثلاث تراكيز من المحلول وهي (250،500 و 750) ملغم /كغم وأُعطيت هذه التراكيز للفئران البيض *Mus musculus* بطريقة التجريع ولمدة 14 يوم وتم حساب النسبة المئوية لتشوهات رؤوس الحيامن بعد ذلك تم اختيار الجرعة المثلى من المستخلص واجري التداخل بين المستخلص والعقار MTX وتم قياس الفعالية التثبيطية للمحلول وقد توصلت الدراسة الى النتائج الاتية:

1- لم تظهر التراكيز 250 و 500 ملغم/كغم تاثيرات سلبية على التشوهات في رؤوس الحيامن .
2- أظهر التركيز 750 ملغم/كغم ارتفاع في النسبة المئوية للتشوهات في رؤوس الحيامن مما يدل على تأثر الحيامن بزيادة الجرعة .
3- امتلاك الجرعة المثلى من المحلول كفاءة تثبيطية عالية تمثلت في خفض النسبة المئوية للتشوهات في رؤوس الحيامن عند اجراء التداخل مابين المحلول والعقار MTX حيث وجد بان اعطاء المحلول بعد العقار يؤدي الى حدوث تأثير تثبيطي واضح لازالة التأثيرات الجانبية للعقار .

المقدمة

منذ الأزل اقترن وجود الإنسان بوجود المملكة النباتية وبدأ يتعامل مع أنواعها المختلفة فأخذ منها المفيد غذاء ودواء، وابتعد عن الضار والمهلك منها ، إذ بدأ يجرب النباتات حتى يتمكن من كشف أسرار هذه المملكة وخفايا ها. وقد حدث توجه علمي كبير ومخطط له بشكل واسع لدراسة الخواص الطبية لمركبات الأيض الثانوي الموجودة في جميع الكائنات الحية لاسيما النباتات والاعشاب الطبية وكيفية الاستفادة من تلك المنتجات الطبيعية Natural products في علاج الامراض المختلفة وخصوصا المستعصية منها ، وبما ان السرطان واحد من الامراض الخطيرة والمهلكة للانسان اذ انه يعد المرض الثاني المسبب للوفاة في العالم بعد الاصابة بأمراض القلب والشرايين (Stevens and Lowe , 2000) فضلا عن كون اغلب علاجاته الناتجة من تداخل جراحي او علاج كيميائي لهما تأثيرات جانبية تعود سلبا على صحة المريض لذلك دأب العلماء والباحثون في مجال انتاج الادوية والعقاقير الطبية على أيجاد علاجات بديلة Alternative medicine من منتجات طبيعية عسى ان يكون لها تأثير اكثر تخصصا من العلاجات التقليدية، وكانت مركبات الايض الثانوي للنباتات والاعشاب الطبية واحدة من البدائل القوية التي فرضت نفسها بشدة على الساحة العلاجية، كما تم أثبات الدور الوقائي للمستخلصات

النباتية ضد المسرطنات والمطفرات الكيميائية (حسن، 2002). لذلك أصبحت دراسة مكونات هذه النباتات من المواد الكيميائية وغيرها هدفا تسعى اليه العديد من المؤسسات والهيئات العلمية ذات العلاقة. اذ تم عزل العديد من هذه المواد مثل atropine المزيل للمغص و digitalis المحفز للقلب و quinine المستخدم في علاج الملاريا وغيرها من العقاقير الطبيعية مما دعا المؤتمرات الطبية الى المناداة بضرورة العودة الى النباتات الطبية والخامات الدوائية الطبيعية ، والاهتمام بها بصفتها مصدراً آمناً لصناعة الأدوية ، والحد من تداول العقاقير المصنعة التي قد تمتلك تأثيرات جانبية (الربيعي ،2000) لذا صممت هذه الدراسة لتسليط الضوء على المركبات الطبيعية التي تمتلك الصفة المضادة للتطفير في نبات القهوة .

استعراض المراجع

تعد القهوة من أكثر المشروبات استهلاكا، اذ يقدر مايستهلك منها في العالم (1.5) مليار كوب يوميا(Nalon,2001) ، فالقهوة شجيرات موطنها افريقيا الاستوائية ومصطلح Coffee مأخوذ من كلمة Kaffa وهو أقليم في أثيوبيا (Boucher,1983) وتعد البرازيل من أكثر البلدان أنتاجاً للقهوة وقد صمم البرازيليون خرائط وراثية مطلقة لأكثر من 3500 نوع مما يشير الى أنتاج شجيرات قهوة مقاومة للأمراض والمبيدات العشبية (Clarke and Macra,1985) وتصنف القهوة ضمن عائلة الصبغيات Rubiaceace، وهي عائلة كبيرة ومختلفة عن معظم النباتات الخشبية ولها (500) جنس (6000) نوع ومن بين (25) نوعا الى 100 نوع من الجنس CoffeeArabica وتدعى بالقهوة العربية ، والنوع Coffee canephorea وتدعى قهوة (الروبستا) Rubusta، (Gilman, 1999) .

تتكون القهوة من ثلاث قلويدات مترابطة تقريبا وهي : الكافئيين Caffeienوالثيوفلين Theophylline والثيوبرومين Theobromine تؤلف بمجموعها القهوة (Nalon,2001) ، ويعد الكافئيين من أهم المواد الفعالة في القهوة اذ يصل الى الدماغ خلال دقائق من تناول القهوة ويعمل على ابقاء الحواس متيقظة منتبهة عند بعض الأشخاص، فهو من زمرة المنبهات التي تدعى المثيل زانثين Methyl Xanthene الاسم الكيميائي للكافئيين هو 3,7-dihydro-1,3,7-Trimethyl-IH-purine-2,6-iodine (Nalon,2001; Liebrman *et al.*,1987)،.
وتعد القهوة من اهم المصادر من ناحية أحتوائها على المواد المضادة للأكسدة Antioxidants ويأتي من بعدها الشاي الأسود ثم الموز (Waring*et al.*,2003) ،
يعد الكافئيين من المواد المؤثرة جدا في عمل الجهاز العصبي المركزي، لكنه يؤثر بدرجة أقل في عمل عضلات القلب، وافراز العصارة المعدية وعملية الإفراغ البولي، والكافئيين مادة منشطة يعتمد نشاطها على الجرعة اذ يكون تأثير الجرعات العالية منه في الحبل الشوكي واضحا وينتج عن هذا التأثيروضوح في التفكير واقلال التعب (Lecose,1988)، وأن هذا التأثير يكون مؤقتاً وعابراً اذ يمر خلال ساعات أي انه لا يتراكم في الجسم (Klebanoff *et al.*,1999)، ومن الواضح أن الأفراد الذين يستعملون الكافئيين بشكل مفرط يعانون من حالة الصداع المستمر(Livermore,1991).وان نصف عمر الكافئيين وهو وقت أخذه ولغاية طرحة من الجسم مع أخذ الأختلافات الفردية بالحسبان يبلغ ما يقرب من (3-4) ساعات لدى الأشخاص الأصحاء في حين يكون نصف عمر الكافئيين لدى الاطفال الرضع ما يقارب (4) أيام (Clausson and Granath ,2002) .

يؤثر الكافئيين في الجهاز القلبي الوعائي Cardio vascular system بدرجة أقل من تأثيره في الجهاز العصبي ، اذ ان التأثير المحفز المباشر على القلب ربما يكون متعادلاً بواسطة تحفيز العصب المركزي ، ويتمثل التأثير المباشر عند أستهلاك الجرع العالية بحدوث خفقان القلب Tachycardia واخيراً ينتج عدم انتظام النبض Arrhythima (Warnig *et al*.,2003).

ويمكن أن يتراكم أن يتراكم الكافئيين لدى الأشخاص الذين يعانون من أمراض حاده في الكبد، عندها يزداد نصف عمر الكافئيين الى (96) ساعة، وهنا ينصح بإخضاع من يتناول القهوة منهم للمراقبة الصحية الدائمة (Livermore,1991) .

ويتأثر فعل الكافئيين بتداخله مع العقارات الأخرى مثل الباربيتول اذ يؤدي الى زيادة النوم وهو تأثير مضاد لفعل الكافئيين وحده ، في حين يمكن أن يتداخل الكافئيين مع بعض أنواع العقاقير أو الأدوية مما يؤدي الى تحوير لفعلها، مثلاً تداخل الكافئيين مع عقار (ناردیل) Nardil الذي هو مثبط لأنزيم (MAO Inhibitor) مما يتسبب بالآم الرأس وارتفاع ضغط الدم(Ascherio *et .al*,2003).

ويعمل الكافئيين كونه مدرراً و موسعاً للأوعية الدموية ومسهلاً وكابحاً للشهية (Willson,1999) ، أما الجرعة المميتة له فتساوي10000 ملغم أي ما يعادل 100 كوب، أما الجرعة المساوي ل1000 ملغم فأنها تسبب الصداع والغثيان والتقيؤ والأرق وزيادة سكر الدم وزيادة ضغط العين والخفقان(Pollard,1994).

وأشارت بعض الدراسات الى أخطار كبيرة تشمل التشوهات الولادية وحدوث أنواع من السرطانات والإصابةبإمراض القلب (Lacorix *et al* .,1986) وأشار Marshburn وجماعته (1989) الى أن تناول أربعة أكواب او أكثر من القهوة يومياً يؤدي الى تقليل عدد النطف وحركتها وزيادة النسبة المئوية للنطف الميتة، أما الجانب الايجابي فأن التركيز المعتدل لاستهلاك القهوة يقلل من أصابة سرطان القولون، والتليف الكبدي، وحصاة المرارة، والشلل الرعاشي، والربو وحالات الانتحار (Schairer *et al*., 1986).

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

المحاليل Solutions :

1 - دارئ الفوسفات الملحي Phosphate Buffered Saline (PBS)

أذيبت المكونات أدناه في (500 مل) من الماء المقطر ثم اكمل الحجم إلى (1000 مل) :-

0.20 غم كلوريد البوتاسيوم (KCl)
8.00 غم كلوريد الصوديوم (NaCl)
1.15 غم فوسفات الصوديوم احادية الهيدروجين (Na_2HPO_4)
0.20 غم فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4)

وثبت الرقم الهيدروجيني (pH) عند (7.2) وعقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة (4°م) .

2- صبغة الايوسين Eosin Stain

حضر المحلول بإذابة (1 غم) من صبغة الايوسين الصفراء (Eosin Yellowish) في (100مل) من الماء المقطر .

3- المحلول المائي للقهوة

حضر المحلول المائي للقهوة بثلاثة تراكيز وذلك بأذابة (250 ، 500، 750) ملغم في 50 مل من الماء الساخن وتم تحريكه باستمرار وذلك لمحاكاة مايحصل لدى الإنسان. علماً بأن

هذه التركيزات تعادل ما يستهلكه البشر من القهوة ما يعادل كوب واحد وكوبين، وثلاثة أكواب، . وقد تم أحتساب هذه التركيزات على أساس اعتماد معدل وزن الفرد من البشر 70 كغم، وتم مراعاة ذلك عند احتساب الجرعة التي أعطيت إلى حيوانات التجربة على أساس ملغم/وزن الجسم يساوي 30 غم للحيوان.

4-المحلول الخزين لعقار الميثوتروكسيت Methotrexat Stock Solution

حُضر بأذابة 50 ملغم من مسحوق عقار(MTX) في 50 مل من الماء المقطر المعقم وحفظ في الثلاجة (4ْم) ويعد هذا المحلول محلول الأصل وقد أُختيرت الجرعة(2)ملغم/كغم من وزن الجسم .

الحيوانات المختبرية

استعملت في هذه الدراسة ذكور الفئران السويسرية البيضاء من نوع *Mus musclus* والبالغ عددها (30) فأراً وبعمر 12 أسبوع وزعت على مراحل الاختبار في هذه الدراسة وقد قسمت الى اربعة مجاميع:-

1- **المجموعة الاولى:**- جرعت حيوانات هذه المجموعة بمحلول داريء الفوسفات الفسيولوجي (مجموعة السيطرة).
2- **المجموعة الثانية:**- جرعت حيوانات هذه المجموعة بمحلول القهوة بتركيز250 ملغم/كغم .
3- **المجموعة الثالثة:-** جرعت حيوانات هذه المجموعة بمحلول القهوة بتركيز 500 ملغم/كغم .

4- **المجموعة الرابعة:**- جرعت حيوانات هذه المجموعة بمحلول القهوة بتركيز 750 ملغم/كغم .

تم التجريع لمدة 14 يوم بعد انتهاء التجربة الاولى تم اختيار الجرعة المثلى للمحلول المائي للقهوة والتي سجلت اقل نسبة للتشوهات في رؤوس الحيامن وتم اجراء التجربة الثانية التي تضمنت 3 مجاميع هي :

1- **المجموعة الاولى:**- جرعت حيوانات هذه المجموعة بمحلول داريء الفوسفات الفسيولوجي (سيطرة سالبة).
2- **المجموعة الثانية** :-وهي مجموعة الحيوانات المحقونة بعقار مطفر وراثيا (Mutagenic) ، وهذا العقار هو الميثوتروكسيت (MTX) (سيطرة موجبة).

3- **المجموعة الثالثة** :- حقنت حيوانات هذه المجموعة بالعقار MTX بتركيز 2ملغم/كغم في اليوم الاول ثم جرعت بمحلول القهوة بتركيز 250 ملغم/كغم لمدة اسبوعين .

جرعت جميع حيوانات المجاميع الخمسة الاولى يوميا ولمدة اسبوعين ، حيث شرحت الحيوانات بعد انتهاء التجربة لغرض اجراء الفحوصات الوراثية وبعد اختيار الجرعة المثلى تم اجراء تجربة التداخل بين محلول القهوة والعقار MTX وخصص لكل مجموعة 5 حيوانات.

فحص تشوهات رؤوس الحيامن Sperm head abnormality assay

شرحت الفئران واستخرجت الحيامن من البربخ (Epididymis) وباستخدام طريقة (Wyrobek & Bruce, 1975) وبحسب الخطوات الاتية:

1- قطع البربخ ووضع في طبق بتري حاوي على (5 مل) من محلول داريء الفوسفات وباستخدام شفرة حادة وملقط دقيق تم تقطيع البربخ الى اجزاء صغيرة جدا ووضع المحلول الحاوي على تلك الاجزاء في انبوبة اختبار نظيفة .

2- حضرت شرائح زجاجية نظيفة وفرشت قطرة من المحلول الذي في الانبوبة على الشريحة الزجاجية، ثم تركت الشرائح على صفيحة ساخنة (50 ° م) لتجف.

3- صبغت الشرائح الزجاجية الجافة بصبغة الايوسين (1% Eosin) لمدة (1-3دقائق) وبعدها ازيلت الصبغة الزائدة بغسل الشرائح بالماء المقطر.

فحصت الشرائح بعد ان جفت بالمجهر الضوئي وباستخدام العدسة الزيتية اذ تم حساب النسبة المئوية لتشوهات رؤوس الحيامن من خلال فحص (100 نطفة) لكل شريحة بشكل متعرج Zigzag وتم تعيين النسبة المئوية للحيامن المشوهة منها على وفق المعادلة الآتية (Sakamoto and Hashimato, 1986) :

$$\text{النسبة المئوية للحيامن المشوهة} = \frac{\text{عدد الحيامن المشوهة}}{\text{عدد الحيامن المحسوبة الكلي}} \times 100$$

كما تم حساب الفعالية التثبيطية لمحلول القهوة بالإعتماد على تشوهات رؤوس الحيامن حيث أعتمدت المعادلة التالية:-

فعالية التثبيط (%) = (ج- أ) /ب× 100

أ= السيطرة الموجبة

ب= السيطرة السالبة

ج= المعاملة المزدوجة (المحلول والمطفر) (Kanazwa *et al*.,1998)

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم تحليل البيانات وفق التصميم العشوائي الكامل Complet Random Designer (CRD) لدراسة تأثير المعاملات المختلفة ، و قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات بأختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) Least Signifcant Difference

النتائج Results

شملت تشوهات رؤوس الحيامن الرأس غير المنتظم والرأس المفقود والرأس المختزل والرأس مكسور الكلاب . اظهرت النتائج المدونة في الجدول (1) انخفاض طفيف في معدل التشوهات لرؤوس الحيامن عند المعاملة الاولى حيث بلغت في اليوم الرابع عشر بعد التجريع (3.4) بينما بلغت نسبة التشوهات في معاملة السيطرة (3.8) كما يلاحظ أن مقدار الزيادة في حصول التشوهات قد ارتبط بزيادة التركيز حيث ان معدلات التشوهات قد ازدادت بزيادة التركيز إذ وصلت الى (4.1) للتركيز 500 ملغم/كغم ولم يشكل هذا الاختلاف فرقاً معنويا عند مستوى احتمال (P< 0.01) عند المقارنة مع فئران السيطرة وقد لوحظ أن القيمة العليا للتشوهات ظهرت عند التركيز 750 ملغم /كغم حيث بلغت 6.3كما هو موضح في جدول رقم (1) .

جدول(1) تأثير التجريع بالمحلول المائي للقهوة على النسبة المئوية لتشوهات رؤوس الحيامن في ذكور الفئران البيض .

المعاملات	معدل نسبة التشوهات فى رؤوس الحيامن	
	المعدل	الخطأ القياسي
السيطرة	3.8 * a	± 0. 31
المعاملة الاولى	3.4a	± 0. 15
المعاملة الثانية	4.1a	± 0.22
المعاملة الثالثة	6.3 b	± 0.18

* الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود إختلافات معنوية بين المعاملات .

لقد كانت التشوهات في رؤوس الحيامن تشمل رأس مختزل وفاقد الرأس ورأس المطرقة والرأس غير المنتظم (كما في الشكل2و3و4) ، وقد لوحظ أن الحيامن متحطمة الرأس والرأس المفقود هي اكثر نسبة للتشوهات بينما يكون الانتفاخ في رؤوس الحيامن هي الاقل نسبة بين التشوهات .

وهذه النتائج جاءت مطابقة مع نتائج كل من Anderson وجماعته (1984) و Marshbun وجماعته (1989) الذين أوضحوا بان زيادة شرب القهوة لأكثر من كوبيين باليوم يؤدي إلى حدوث زيادة معنوية في النسب المئوية للنطف الميتة والمشوهة، وقد يعود السبب في ذلك إلى التأثير الأستروجيني للقهوة في خلايا ليدك لتثبيط إنتاج هرمون الشحمون الخصوي، مما يؤدي إلى انخفاض تركيزه في بلازم دم الذكور المعاملة، الأمر الذي يحدث اضطرابا وشذوذاً في وظيفة البربخ .

يتضح من خلال النتائج ان المحلول المائي للقهوة لم يظهر تاثيرات مطفره في المادة الوراثية للخلايا الجنسية الذكرية في التراكيز الواطئة ،بينما سبب التركيز العالي زيادة معنوية في نسب تشوهات رؤوس الحيامن بعد 14 يوم من التجريع مما يدل ان المحلول قد أثر على الخلايا الجذعية الجنسية Spermatogonia والتي هي مصدر للنطف كلها أوقد يُعزى ذلك الى الفعل التراكمي للكافئيين في الجسم (Rietveld *et al* .,1984). .

لقد ذكرت بعض الدراسات ان لبعض المواد القدرة على احداث تغيرات مختلفة للخلايا الجنسية الذكرية في مرحلة تكوين أرومات النطف (Spermatid) والنطف (Spermatozoa) (Jenkinson and Anderson , 1990) . وقد يكون سبب هذه التأثيرات على الخلايا المولدة للنطف وإنتاج نطف مشوهة ناتج عن تأثير االكافائين على إحداث طفرة في الجين المشفر لشكل

النطف مما يؤدي الى إنتاج نطف مشوهة غير طبيعية أو قد تنتج هذه التشوهات من خلال تأثير الكافائين على التفاعلات الإنزيمية والهرمونية (Quninto *et al* ,1989) وهذا يتفق مع بعض الدراسات التي أشارت الى ما تقوم به بعض المواد السامة وراثياً في تقليل الخصوبة (Wang and Waller, 1998) .

يبين الجدول (2) بان المعاملة بعقار MTX أدت الى إرتفاع النسبة المئوية لتشوهات الحيامن الى (27. 9%) في حين بلغت هذه النسبة (3.52%) لمجموعة فئران السيطرة السالبة بحيث كان الفرق عالي المعنوية ($P< 0.01$) .

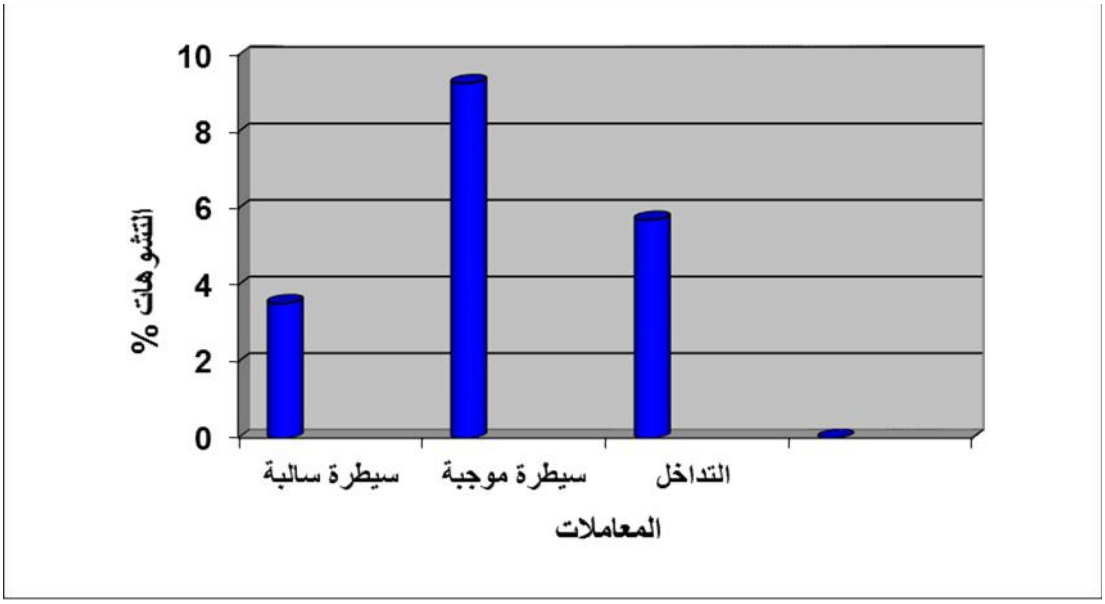
ولقد أسهم المحلول المائي للقهوة في انخفاض النسبة المئوية لتشوهات الحيامن والتي تأثرت سلبيا نتيجة المعاملة بعقار MTX وكما موضح في الشكل(2)، حيث ان اعطاء المستخلص بعد العقار أدى الى حصول انخفاض في النسبة المئوية للتشوهات الى (5.7%) ، بحيث اكتسبت الفروق الدلالة الاحصائية ($P< 0.01$) عند المقارنة بالسيطرة الموجبة .

وقد يُعود السبب في ذلك الى ان المركبات الفعالة في المحلول تتحد مع العقار مكونة معقدات تؤدي الى منع امتصاصها من القناة الهظمية حيث تحتوي القهوة على بعض المركبات ذات الخاصية المضادة للتطفر ومنها المركبات الفلافونية Flavonoids والتي شُخص لها العديد من الوظائف الحياتية المهمة Bio- function مثل الفعالية المضادة للألتهاب Anti-inflammatory والفعالية المضادة للتسرطن Anticarcinogenic حيث ان هذه المركبات تعمل آليات عديدة لتثبيط فعل المطفرات منها التحوير في عمل الإنزيمات السايتوكرومية ، وبالتالي تثبيط التنشيط الأيضي للمطفرات وبالإضافة الى كسح الجذور الحرة والصفة المضادة للتأكسد Antioxidant إذ تعمل من خلال ذلك على تقليل تكسر شريط الدنا DNA strand break وتحفيز نظام الإصلاح (Kanazawa *et. al* .,1998) .

جدول (2): تاثير التداخل بين المحلول المائي للقهوة والعقار MTX في معدل تشوهات رؤوس الحيامن للفئران البيض

المعاملات	معدل تشوهات رؤوس الحيامن		الفعالية التثبيطية %
	المعدل	الخطأ القياسي	
سيطرة سالبة	3. 52 a*	0. 25 ±	
سيطرة موجبة(2ملغم/كغم)	9.27 b	0. 21 ±	
المعاملة بالمحلول بعد العقار	5.70 c	0. 18 ±	16.0 ± 1.0

* الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود إختلافات معنوية بين المعاملات .



شكل (2): تاثير التداخل بين المحلول المائي للقهوة والعقار MTX في نسبة تشوهات رؤوس الحيامن في الفئران البيض .

الأستنتاجات

1- تبين من النتائج السابقة عدم وجود تأثيرات سمية وتطفيرية للمحلول المائي للقهوة في نسبة تشوهات رؤوس الحيامن للفئران البيض عند الجرع الواطئة .

2- إن فعالية المستخلص مرتبطة بزيادة التركيز وأن هناك تركيز أمثل وهو 250ملغم/كغم من وزن الجسم .

3- إمتلاك المحلول المائي للقهوة فعالية مضادة للتطفر تجاه المطفر MTX حيث أظهر إعطاء المحلول بعد العقار كفاءة تثبيطية واضحة لازالة التأثيرات الجانبية للعقار.

التوصيات Recommendations

1- اجراء دراسات مماثلة على أجزاء أُخرى من النبات مثل السيقان بالإضافة الى عزل وتنقية المواد الفعالة الموجودة في القهوة .

2- دراسة تأثيرات مواد منبهة أخرى غير القهوة تحتوي مادة الكافئيين ومقارنة ذلك بتأثير القهوة في الجسم.

3- إجراء دراسات أُخرى لبيان تأثير مستخلص القهوة في معدل انقسام الخلايا لدى الحيوانات المختبرية .

4- إجراء دراسات لنباتات طبية أُخرى مع عقارات أُخرى شائعة الأستعمال في علاج الأورام السرطانية أو الأصابات المختلفة والأهتمام بتصنيف النباتات الطبية المتداولة في الأسواق .

المصادر

- النويني ،هشام قاسم محمد .(2007) . تأثير محلول القهوة المائي في معالم النطف لدى ذكور الجرذان البيض . . رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة

-الربيعي،فرحة عبد علي شفي . (2000) دراسة القابلية التطفيرية والمضادة للتطفير لبعض النباتات الطبية العراقية في الفئران البيض. رسالة ماجستير، كلية التربية، ابن الهيثم، جامعة بغداد.

-حسن ، مفيد قائد احمد. (2002). استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط الاثر السمي الوراثي لبعض العقاقير المضادة للسرطان في الفار، اطروحة دكتوراه / كلية العلوم – جامعة بابل.

-خليفة، جنان مهدي غني (2007) : تأثير المحلول المائي للقهوة في الجهاز التناسلي الأنثوي للفئران البيض. رسالة ماجستير. كلية التربية للبنات. جامعة الكوفة.

-Anderson, A. N. ; Semozuk, M. and Tabor, A. (1984) : Prolactin and pituitary-gonadal function in cigarette smoking infertile patients-Andrologia; 16 : 391 – 396.

-Ascherio, A.; Chen, H.; Schawer, Z.; Child, M. A. and speizer, F. E. (2003) : Caffeine, Postmenopausal estrogen and risk of body weight lose, Neurology, Mar.; 11; 60(5) : 790-795.

-Boucher, D. H. (1983) : Coffee (Café) . In : Janzen , D. H. (ed.) Costa Rican natural history . Univ. of Chicago press , Chicago , IL . Pp :86 – 88.

-Clarke, R. J. and Macrae, R. (1985) : Coffee . agronomy . Elsevier Applied Science , New York . , 4 : 11 – 16 .

-Clausson, B. and Granath, F. (2002) : Effect of caffeine exposure during pregnancy on birth weight and gestational age. American Journal of Epidemiology., 155 : 429 – 436.

-Gliman, E. f. (1999) : Coffea Arabica . Florida Coop. Ext. Ser. Fact Sheet FPS – 135 .

- Jenkinson, P. and Anderson, D.(1990). Malformed fetuses and karyotype abnormalities offspring of Cyclophosphamide and allyl alcohol- treated male rats. Mutation Res., 229: 173- 84.

-Klebanoff, M. A. ; Levine, R. J. and Dersimonian, R. (1999) :Maternal serum paraxanthine , a caffeine Metabolite, and the riske of spontaneous abortion . New England Journal of Medicine 341 (22) :1639 – 1644.

-Lecose, C. (1988) :Caffeine jitters : some safety question remain. FDA consumer, 21 : 22 – 27 .

-Lacroix, A. Z. ; Mead, L. A. and Lian, G. K. Y. (1986) :Coffee consumption and the incidence of coronary heart disease . the New England Journal of Medicine , 315 : 977 – 982 .

-Liebrman,H.R.;Wurtman,R.J.and Emde,G.G.(1987) :The effect of Low doses of caffeine on human Performance and mood. Psychopharmacology, 92:308-312.

-Livermore, B. (1991) : Caffeine Boosts Eating Disorders.,Health. June:16.

Maestri, M. R. S.; Barros and Rena, A. B. (2001) : Coffee, In : F. T. Last (ed.). Tree crop ecosystems. Elsevier press, New York. Pp. 339 – 360.

-Marshburn, P. B. ; Sloan, C. S. and Hammonds, M. G.(1989): Semen quqlity and association with coffee drinking cigarette smoking and ethanol consumption fertile. Steril., 52 : 122 – 125 .

-Nolan, L. (2001) : The world's favorite beverage–coffee and health . Journal of Herbs, spices and medicinal Plants . 8 (2/3) : 119 – 159 .

-Pollard, I. (1994) : Increase in plasma concentrations of steroids in the rat after the administration of caffeine : Comparison with Plasma disposition of caffeine. J. Endocrinol. 119 : 275 – 280.

-Quinto, I; Marinis, E& Staiuno, N.(1989). Effect of DNOC, ferbam and Imidan exposure on mouse sperm morphology. Mutat. Res. 224: 405-408.

-Rietveld, E.C.;Broekman, M.M.;Houben, J.J.;Eskes, T.K.and Van Rossum,J. M.(1984):Rapid onset of an increase in caffeine residence time in young women due to oral contraceptive Steroids. Europen Journal of Clinical pharmacology. 26 (3) : 371-3.

-Sakamato, J. and Hashimato, K. (1986) : Reproductive toxicity of acrylamide and related compound in mice, effects on fertility and sperm morphology Arch. Toxicol., 59 : 201-205.

-Schairer, C.;Brinton, L.and Hoover, R.(1986) : Methylxanthines and benign breast disease. American Journal of Epidemiology ,124(4):603-611.

- Wang, Y.& Waller, D.P.(1998). Theobromine toxicity, sertol an leydige cell comparative with coca extract in rats, toxicol. 70(2): 155-164.

- Wyrobek, A.J. & Bruce, W.R.(1975) Chemical induction of spermalities in mice. Proc. Natl. Acad. Sci. 72:4425-4429.