بعض التأثيرات الوراثية المستخلص زهرة الدفلة الحمراء *Nerium oleander* في ذكور الفئران *Mus musculus*

م. م. أبتسام بداي حسان

جامعة ديالى / كلية التربية للعلوم الصرفة / قسم علوم الحياة

الخلاصة :

صممت الدراسة الحالية لغرض تسليط الضوء على بعض التأثيرات الوراثية لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء *Nerium oleander.* كما درست أيضا قدرتها على الفعل المثبط وراثيا لعقار MM-C (Mytomicines) وذلك باستخدام الفأر المتختبري *Mus musculus* كونه نظاما اختباريا حيويا (in vivo) وبالاعتماد على بعض الفحوصات الوراثية والتي شملت معامل انقسام خلايا الطحال والتوثة ونقي العظم ، والتشوهات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة وتشوهات رؤوس النطف.اختبرت ثلاث جرع من مستخلص زهرة الدفلة الحمراء وهي (33,22,11 ملغم/كغم) . أفصحت المعايير المدروسة فعلا واضحا لهذا المستخلص النباتي بعد العقار المطفر MM-C في منع وتقليل فعل هذا العقار المطفر MM-C فقد اعتبر كمثبط مباشر (Desmutagenes) بالدرجة الأولى ومثبطا حيويا (Biodesmutagenes) بالدرجة الثانية.

المقدمة

يعد نبات الدفلة *Nerium oleander* أو سم الحمار من النباتات الطبية المهمة منذ أقدم العصور رغم سميته العالية فحوالي 10 أوراق كافية لقتل حصان و 8 أوراق لقتل بقرة (28)، ألا إن الإنسان استطاع من الاستفادة من هذه الصفة في علاج الكثير من الأمراض. فقد استخدمه السومريون والبابليون في القرن الخامس عشر قبل الميلاد لعلاج الكثير من الأمراض الجلدية والصدفية وكغرغرة لعلاج أمراض اللثة والأسنان ، وأيضا عرفه الرومان والإغريق كعلاج لتخفيف الدوار خصوصا لدى البحارة (26,29). أما العرب فكانوا الأوائل في اكتشاف القدرة العلاجية لهذا النبات ضد الأمراض السرطانية والأورام الجلدية وكذلك في معالجة الآم الظهر والمفاصل(27,11,1) والمشاكل الجلدية عن طريق استخدام حمامات أوراق الدفلة وكذلك تعتبر الأوراق مدررا للبول لوجود القلويدات منها مركب pseudocurarine وأيضا وجود الكلايكوسيدات التي تشبه تلك الموجودة في نبات الديجيتال من حيث الفعالية إلا أنها أسرع تأثيرا ولها خواص تراكمية ضعيفة تستخدم في علاج أمراض القلب وتقوية عضلاته

وتنظيم ضرباته (28,8) . بالإضافة إلى مركبات أخرى مثل أوليدندرجنين Oleandrigenin وجينتيوسيللوأندرين gentiosylolleandrin داجينوز Diginose و ديجتالوز Digitalose و هما غير فعالين طبيًا، كما تحتوي أوراق الدفلى على جليكوسيدات جيوكسيجنين Gitoxigenin و ديجيتوكسجينين digitoxigenin، و عزل العلماء المركبين السابقين من النوع النباتي (29). وأيضا استخدموه كمبيد حشري ضد البراغيث وفي العقود الأولى من هذا القرن وحتى يومنا هذا لازال نبات الدفلة يستخدم كمبيد نباتي فعال ضد الكثير من الآفات الزراعية والقوارض (27,19,10). وكذلك توصلت دراسة حديثة إن نبات الدفلة استخدم في علاج ارتفاع السكر في الدم وأيضا ارتفاع ضغط الدم (12). وتوصلت البحوث إلى إن نبات الدفلة يقلل نسبة الدهون والكولسترول في الجسم (8). وتوصلت دراسة حديثة مؤخرا بأن مستخلص زهرة الدفلة يحمي الأعصاب والخلايا العصبية من التلف (16). وقد كشفت الدراسات الحديثة النقاب إن نبات الدفلة يعد كمضاد للتسرطن لان له فعالية في تحفيز واستحثاث إنتاج الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells في الإنسان لقتل الخلايا السرطانية .(1) كسرطان البروستات (4). وفي دراسات انه يعمل على وقف نمو الأورام السرطانية في الحيوانات (15,13). لان احد مركبات الدفلة هو الاولندرين الذي يوقف نمو الخلايا السرطانية (15,28) ويحدث تشوهات في الخلايا المولدة للنطف مما يسبب العقم لدى ذكور الحيوانات (23,7). وكذلك توصلت دراسة إلى إن المستخلص النباتي لأوراق الدفلة يقضي على مرض الملا ريا (5) وأيضا يحفز على إنتاج الخلايا المناعية التائية T-cells والخلايا الالتهامية وكاما – انترفيرون Y-Interferon (17,6,3).

المواد وطرائق العمل Materials and methods

حيوانات التجربة Experimental animals

استخدمت ذكور الفئران البيض Mus musculus من الضرب Balb/c وبمعدل عمر يتراوح بين (12-9) أسبوعا وبوزن (25 ±3) والتي جهزت من البيت الحيواني في كلية العلوم جامعة بغداد ووزعت في أقفاص لدائن وقد أعطيت الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة القيمة الغذائية المصنعة محليا.

تصميم التجارب Experimental design

صممت لتقييم الدور الذي يؤديه المستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء في تثبيط وتقليل أثر العقار المطفر والمسر طن MM-C في حيوانات التجارب ، وقد تم تقسيم الحيوانات إلى ثلاث مجاميع رئيسة وهي:

أ- المجموعة الأولى : حيوانات السيطرة السالبة المجرعة بالماء المقطر وتضم أربعة حيوانات.

ب- المجموعة الثانية : حيوانات السيطرة الموجبة المجرعة بعقار MM-C وتضم أربعة حيوانات.

ت- المجموعة الثالثة : تضمنت هذه المجموعة ثلاث مجاميع ثانوية ،إذ جرعت حيواناتها ثلاث جرع من المستخلص المائي لزهرة الدفلة وضمت :

- المجموعة الثانوية الأولى : أربعة حيوانات جرعت بـ 0.250 مل من التركيز الأول33 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة أربعة أيام وفي اليوم الخامس تم تشريح الحيوانات.
- المجموعة الثانوية الثانية : أربعة حيوانات جرعت بـ 0.250 مل من التركيز الثاني 22 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة أربعة أيام وفي اليوم الخامس تم تشريح الحيوانات.
- المجموعة الثانوية الثالثة : أربعة حيوانات جرعت بـ 0.250 مل من التركيز الثالث 11ملغم/كغم

د- تحضير المستخلص الماثي لزهرة الدفلة الحمراء : تم وزن 500 ملغم من أزهار الدفلة الحمراء وغليها في1000 مل من الماء المقطر في دورق بايركس ولمدة ثلاث ساعات وخلال الغليان نضيف الماء المقطر حتى نحافظ على مستوى الماء وبعد ذلك تم ترشيح المستخلص بأوراق الترشيح حيث حصلنا على المستخلص الجاف (14)، الذي يبلغ LD50 له حوالي 110ملغم/كغم من وزن الجسم (20). حيث تم اخذ 30% منه للتركيز الأول و 20% منه للتركيز الثاني و 10% منه للتركيز الثالث وكانت كالأتي :

- التركيز الأول 33 ملغم/كغم.
- التركيز الثاني 22 ملغم/كغم.
- التركيز الثالث 11ملغم/كغم.

وتم تجريع الحيوانات من كل تركيز بـ 0.250 مل فمويا واستخدمت جرا عات خاصة لهذا الغرض.

معامل الانقسام والانحرافات الكروموسومية Mitotic index & chromosomal aberrations

اجري اختبار معامل الانقسام بحسب طريقة (21) ، اذ حقن كل فأر بـ (0.250 مل) من محلول الكولجسين عن طريق غشاء الخلب ، وبعد مرور (2.5 ساعة) ضحي بالحيوان بطريقة فصل النخاع والتوثة والطحال وكما يأتي :

شرح الحيوان وذلك بقص الجلد مباشرة واستخرجت الأعضاء من مواقعها. أستخرجت خلايا نقي العظم باستعمال محقنه معقمة و(5 مل) من المحلول الفسلجي Normal saline ونبذت الانابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/ دقيقة) ولمدة (5 دقائق) ثم أزيل الطافي واضيف الى الراسب (10 مل) من محلول كلوريد البوتاسيوم الواطئ الشد ثم حضنت الأنابيب في حمام مائي هزاز بدرجة (37 °م) ولمدة (5 دقائق).ونبذت الأنابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/دقيقة) ولمدة (5 دقائق) ثم أزيل الطافي وأضيف إلى الراسب (5 مل) من المحلول المثبت المحضر آنيا بالتدريج مع المزج المستمر ثم أكمل حجم المثبت

المضاف ليصل إلى (5 مل). وضعت الأنابيب بدرجة حرارة (4°م) لمدة نصف ساعة لغرض تثبيت الخلايا ،أعيدت عملية التثبيت ثلاث مرات ثم نبذت الأنابيب بالنابذة بسرعة (2000 دورة/دقيقة) ولمدة (5 دقائق)، ثم أزيل المحلول الطافي وعلقت الخلايا مرة أخرى في حجم مناسب (2-1مل) من المثبت البارد بعدها رجت الأنابيب الحاوية على الخلايا المثبتة وتم إسقاط (6-8قطرات) من محتويات الأنبوبة على شريحة زجاجية ثم جففت الشرائح على صفيحة ساخنة (50°م) وصبغت الشرائح بصبغة كمزا لمدة (١٥دقيقة) ثم غسلت بالماء المقطر وتركت لتجف وفحصت الشرائح تحت المجهر الضوئي الاعتيادي بالعدسة الزيتية حيث تم فحص (1000خلية) وحسبت الخلايا المنقسمة وغير المنقسمة واستخرج معامل الانقسام لكل عضو وفق المعادلة التالية:

معامل الانقسام (%)=[عدد الخلايا المنقسمة /العدد الكلي للخلايا (المنقسمة وغير المنقسمة)] × 100

أما بالنسبة للتشوهات الكروموسومية فقد حسبت بهيئة (زيغ كروموسومي /خلية) بعد إن فحصت على الأقل 25خلية واضحة في الطور الاستوائي من الانقسام ، شملت التشوهات الكروموسومية : كسر كروماتيدي وكر وموسوم ثنائي القطعة المركزية والكر وموسوم الحلقي.

١-فحص النوى الصغيرة Micronucleus assay

لغرض إجراء هذا الفحص فقد اعتمدت طريقة (24) مع بعض التحوير حيث أخذ عظم الفخذ أو الكتف للفئران التي شرحت لدراسة معامل الانقسام والانحرافات الكروموسومية حيث أزيل الجلد والعضلات المحيطة بالعظم بعد ذلك قصت نهايتي العظم ومن ثم غسل محتوى هذا العظم بواسطة محقنه باستعمال (2 مل) من المصل البشري (AB human serum) الذي اجري له عملية heat inactivation قي درجة حرارة (56°م) ولمدة نصف ساعة، ونبذت الأنابيب الحاوية على خلايا نقي العظم بالنابذة بسرعة (1000دورة/دقيقة) ولمدة (10دقائق)، ثم أخذ الراسب وأهمل الطافي ووضعت قطرة صغيرة منه على حافة شريحة زجاجية وعملت منها مسحة smear ثم تركت الشريحة لتجف بدرجة حرارة الغرفة وبعد ذلك ثبتت الخلايا بالكحول المثيلي لمدة دقيقة إلى دقيقتين بعد إن جفت الشرائح صبغت بصبغة كمزا لمدة (10دقائق) وبعد ذلك غسلت بدارئ سورنس Sorenson,s buffer وفحصت الشرائح باستخدام العدسة الزيتية حيث تم حساب النسبة المئوية لظهور النوى الصغيرة في (500خلية) من نوع poly chromaticerthrocytes .

فحص تشوهات رؤوس النطف Sperm-head abnormality assay

شرحت الفئران واستخرجت النطف البربخ (Epididymis) وباستخدام طريقة (25) حيث قطع البربخ ووضع في طبق بتري حاوي على (5 مل) من المحلول الفسلجي Normal slain باستخدام

شفرة حادة إلى أجزاء صغيرة جدا ووضع المحلول الحاوي على تلك الأجزاء في أنبوبة اختبار، وفرشت قطرة من المحلول الذي في الأنبوبة على شريحة زجاجية ، ثم تركت الشرائح على صفيحة ساخنة(50°م) لتجف بعدها صبغت بصيغة الايوسين (Eosin 1%) لمدة 3-1دقائق ثم غسلت بالماء المقطر، وفحصت بالمجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية إذ تم حساب النسبة المئوية لتشوهات رؤوس النطف مع الشكل الطبيعي لرأس نطفة الفارة من الضرب Balb/c .

الطرائق الإحصائية:

تم تحليل النتائج إحصائيا باعتماد احد الأنظمة الإحصائية والمسمى (SPSS) وفقا للنموذج الإحصائي لتحليل التباين باتجاه واحد (one way ANOVA test) مع استخدام اقل فرق معنوي (leasing significance differences) وثبتت القيم على شكل (المعدل ± الخطأ القياسي).

النتائج Results

(جدول ١) معامل انقسام خلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء وفئران السيطرة .

مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
		المعدل	الخطأ القياسي	
ماء مقطر (سيطرة سالبة)	4	13.5	1.3	
المايتومايسين MMC السيطرة الموجبة	4	21.6	2.8	أ ≥ 0.05
الجرعة الأولى (٣٣ملغم/كغم)	4	4.5	0.7	أ≥0.05
الجرعة الثانية (٢٢ملغم/كغم)	4	4.2	0.9	أ ≥ 0.05
الجرعة الثالثة (١١ملغم/كغم)	4	5.7	0.3	أ≥0.05

(جدول ٢) معامل انقسام خلايا التوثة في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء وفئران السيطرة .

مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
		المعدل	الخطأ القياسي	

ماء مقطر (سيطرة سالبة)	4	7.1	1.9	
المايتومايسين MMC السيطرة الموجبة	4	16.4	1.7	أ ≤ 0.05
الجرعة الأولى (٣٣ملغم/كغم)	4	3.6	0.7	أ≤0.05
الجرعة الثانية (٢٢ملغم/كغم)	4	3.1	0.8	أ ≤ 0.05
الجرعة الثالثة (١١ملغم/كغم)	4	5.7	1.2	أ≤0.01

(جدول ٣) : معامل انقسام خلايا الطحال في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء وفئران السيطرة .

مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
		المعدل	الخطأ القياسي	
ماء مقطر (سيطرة سالبة)	4	12.3	1.2	
المايتومايسين MMC السيطرة الموجبة	4	19.2	1.9	أ ≤ 0.01
الجرعة الاولى (٣٣ملغم/كغم)	4	4.8	0.7	أ≤0.05
الجرعة الثانية (٢٢ملغم/كغم)	4	4.1	1.1	أ ≤ 0.05
الجرعة الثالثة (١١ملغم/كغم)	4	6.2	0.8	أ≤0.05

(جدول ٤) : معدل الزيغ الكروموسومي لخلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء وفئران السيطرة.

مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
		المعدل	الخطأ القياسي	
ماء مقطر (سيطرة سالبة)	4	0.015	0.20	
المايتومايسين MMC السيطرة الموجبة	4	2.200	0.30	أ ≥ 0.05
الجرعة الأولى (٣٣ملغم/كغم)	4	0.001	0.00	أ≥0.01
الجرعة الثانية (٢٢ملغم/كغم)	4	0.003	0.00	أ ≥ 0.01
الجرعة الثالثة (١١ملغم/كغم)	4	0.004	0.00	أ≥0.01

(جدول ٥) : النسبة المئوية لتكون النوى الصغيرة لخلايا نقي العظم في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء وفئران السيطرة.

مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
		المعدل	الخطأ القياسي	
ماء مقطر (سيطرة سالبة)	4	O.90	0.020	
المايتومايسين MMC السيطرة الموجبة	4	9.8	0.300	أ ≥ 0.01
الجرعة الاولى (٣٣ملغم/كغم)	4	0.000	0.000	أ≥0.05
الجرعة الثانية (٢٢ملغم/كغم)	4	0.001	0.000	أ ≥ 0.05
الجرعة الثالثة (١١ملغم/كغم)	4	0.004	0.001	أ≥0.05

(جدول ٦) : معدل تشوهات رؤوس النطف في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء وفئران السيطرة.

مادة التجريع والجرعة (ملغم/كغم)	عدد الفئران	النسبة المئوية للخلايا المنقسمة		الاحتمالية
		المعدل	الخطأ القياسي	
ماء مقطر (سيطرة سالبة)	4	1.40	0. 20	
المايتومايسين MMC السيطرة الموجبة	4	9.90	0.30	أ ≥ 0.01
الجرعة الأولى (٣٣ملغم/كغم)	4	0.00	0.00	أ≥0.05
الجرعة الثانية (٢٢ملغم/كغم)	4	0.00	0.00	أ ≥ 0.05
الجرعة الثالثة (١١ملغم/كغم)	4	0.00	0.00	أ≥0.05

معامل انقسام خلايا نقي العظم

بينت النتائج في الجدول (١) بان المعاملة بعقار المايتومايسين –س (MMC) أدى إلى ارتفاع معامل انقسام نقي العظم حيث بلغ (21.6%) بالمقارنة مع حيوانات السيطرة السالبة الأولى (13.5 %) بحيث كان الفرق معنويا (أ ≥ 0.01) وعند تجريع الحيوانات بالمستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء الجرعة الأولى (33 ملغم/كغم) لوحظ انخفاض في المعدل بحيث بلغ (4.5%) وكذلك عند إعطاء الجرعة الثانية (22ملغم/كغم) حيث بلغ المعدل (4.2%) وأيضا عند إعطاء الجرعة الثالثة (11ملغم/كغم) حيث بلغ انخفاض المعدل (5.7%) حيث شكل فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥ 0.05) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة.

معدل انقسام خلايا التوثة

تشير النتائج في الجدول (٢) إلى وجود ارتفاع ملحوظ في معدل انقسام خلايا التوثة عند المعاملة بعقار MMC والتي كانت (16.4%) مقارنة بالسيطرة السالبة (7.1%) بحيث اكتسب الفرق الدلالة الإحصائية (أ ≥ 0.05) ، وعند أعطاء الجرعة الأولى (33 ملغم/كغم) من مستخلص زهرة الدفلة المائي سجل انخفاضا ملحوضا بلغ (3.6%) وكذلك الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم) حيث بلغ (

3.1%) وكذلك الجرعة الثالثة (11ملغم/كغم) حيث بلغ المعدل (5.1%) بحيث شكل فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥ 0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة.

معدل انقسام خلايا الطحال

تشير النتائج في الجدول (٣) إلى وجود ارتفاع ملحوظ في معدل انقسام خلايا الطحال حيث بلغ (19.2%) عند إعطاء العقار MMC مقارنة بالسيطرة السالبة والتي بلغت (12.3%) وهذا شكل فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥ 0.05) وعند إعطاء الجرعة الأولى لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء سجل انخفاضا ملحوظا حيث بلغ (4.1%) وكذلك عند إعطاء الجرعة الثانية بلغ الانخفاض حوالي (4.8 %) وأيضا سجلت الجرعة الثالثة للمستخلص النباتي انخفاضا بلغ (5.9%) وهذا شكل فبرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥ 0.05) مقارنة بالسيطرة السالبة.

معدل الزيغ الكروسومي

بينت النتائج في الجدول (٤) إن المعاملة بعقار المايتوماسين –سي MMC (السيطرة الموجبة) زيادة في نسبة الانحرافات الكروموسومية لكل خلية حيث بلغ المعدل (2.20 زيغ/ خلية) مقارنة بالسيطرة السالبة الأولى والتي كانت (0.015 زيغ/ خلية) بحيث كان الارتفاع معنويا (أ ≥ O.O5) وعند إعطاء الجرعة الأولى من (0.003 زيغ /خلية) وسجلت الجرعة الثالثة انخفاضا بلغ (0.004 زيغ/خلية) وهذا شكل فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥ 0.01) مقارنة بالسيطرة السالبة.

النوى الصغيرة

أظهرت النتائج في الجدول (٥) ارتفاعا ملحوضا في نسبة النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم عند المعاملة بعقار MMC حيث بلغ المعدل (9.80%) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة والتي كانت (0.90%) بحيث اكتسب الفرق الدلالة الإحصائية (أ ≥ 0.01) . وعند إعطاء الجرعة الأولى من المستخلص النباتي سجل انخفاضا ملحوضا حيث لم يؤشر اي ظهور للنوى الصغيرة في الخلايا المفحوصة ،وكذلك عند إعطاء الجرعة الثانية والثالثة من المستخلص النباتي (0.001% , 0.004) وهذا شكل فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥0.05). مقارنة بالسيطرة السالبة .

تشوهات رؤوس النطف

شملت تشوهات النطف الرأس الصغير(الضيق) Narrow head ، والرأس الدقيق Micro head ، والرأس الضخم Giant head ، والرأس مكسور الكلاب Broken hook head، والرأس المطرقة Hammer head حيث أظهرت النتائج في الجدول (٦) زيادة في معدل تشوهات رؤوس النطف عند المعاملة بعقار MM-C حيث بلغ المعدل (9.9%) في ذكور الفئران البيض مقارنة بالسيطرة السالبة والتي كانت (1.4%) وشكل هذا الاختلاف فرقا معنويا عند مستوى دلالة (أ ≥ 0.01).

وعند إعطاء الجرع الثلاث لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء سبب تلف في الخلايا المولدة للنطف مما سبب عدم تكون النطف نهائيا وكما موضح في نتائج الجدول أعلاه حيث بلغ المعدل (0.00%) وهذا شكل دلالة إحصائيا عند مستوى (أ $\geq$ 0.05) عند المقارنة بالسيطرة السالبة.

المناقشة Discussion

أوضحت النتائج المبينة في الدراسة الحالية بأن المستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء له تأثيرات واضحة في حماية المادة الوراثية للفأر المختبري من خلال خفض معدل انقسام خلايا نقي العظم والطحال والتوثة وأيضا من خلال خفض معدل الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة في نقي العظم المستحثة بعقار MM-C وهذا ربما يفسر في ضوء كون هذا المستخلص النباتي من مضادات الأكسدة anti-oxidants (21;2;15). تكمن أهمية هذه أذا أخذنا بنظر الاعتبار بان معظم السرطانات في الإنسان مسبوقة بحصول طفرة وراثية على مستوى الكر وموسوم أو مستوى الدنا DNA في الخلية والتي عادة ماتكون مستحثة بالملوثات البيئية التي يتعرض لها الإنسان خصوصا في العراق (9) ،لذلك هل يمكن تحصين الإنسان بهذا المستخلص النباتي ضد الإصابة بالسرطان نتيجة تكون الجذور الحرة داخل الجسم بفعل المطفرات البيئية والتي لها القابلية على إحداث الضرر في ال (DNA) وال (RNA) في الخلايا (21). وهذا مالوحظ في الدراسة الحالية حيث ساهم المستخلص وبجرعاته الثلاث في تقليل نسبة الانحرافات الكروموسومية ومنع تشكيل النوى الصغيرة نتيجة التعرض للعقار المطفر MM-C وهذا ماوضحته النتائج في الجدولين (4,5). نتيجة وجود بعض المركبات الكلايكوسيدية والتي تعمل على إيقاف دورة الخلية في طور الراحة وعدم دخولها إلى طور الانقسام نتيجة إيقاف عمل الكاينيز kainase وبالتالي إيقاف عملية الفسفرة ودخول الخلية في مرحلة الانقسام (4,1) إذا استخدم بجرع مناسبة مع الأخذ بعين الاعتبار LD50 الذي يبلغ حوالي 110ملغم/كغم من وزن الجسم (20). بحيث لاتؤثر على حياة الإنسان أو الحيوان لان هذا النبات سام جدا فيجب الحذر عند استعماله وعلى الرغم أن هذا المستخلص سبب العقم للحيوانات المدروسة كما هو موضح بالجدول (6) وهذا ما توصلت إليه بعض الدراسات حيث أكدت على إن مستخلص نبات الدفلة سبب العقم لذكور حيوانات التجربة نتيجة إيقاف الخلايا المولدة للنطف وعدم انقسامها (23,7). لذا يجب الحذر عند استخدام هذا النبات وحساب نسبة التركيز الذي لايسبب توقف للخلايا المولدة للنطف عند إجراء الدراسات المستقبلية .

المصادر References

1.Pathak , S . ; Muttani , AS . ; Narayan , S . ; Kumar , V . and Newman , RA Anvirzal , an extract of Nerium oleander , induces cell death in human but not murine cancer cells . *Anticancer drugs* , . (2001) 12 (7) : 635-8 .

2.Zhao, M .; Zhang , S .; Fu , L .; Li , N . ; Bai , J . ; Wang , L .; Tang , W . ; Hasegawa , T .; Ogura , H . ; Oka , S . ; Kiuch , M . ; Hirose , K . and Ando , M . Taraxa sterane – and ursane – type triterpenes from Nerium oleander and their biological activities . *J* . *Nat* . *Prod* . (2006) 69 (8) : 1164 – 7 .

3.Dasgupta , A . and Datta , P . Rapid detection of oleander poisoning using digoxin immuno assay . comparison of five assays . *There drug Monit* (2004).26 (6) : 658 – 63

4.Smith , JA . ; Madden , T . ; Vijjeswarapu , M . and Newman , RA . lnhibition of export of fibroblast growth factor – 2 (FGF - 2) from the prostate cancer cell lines PC3 and 145 by anvirzel and its cardiac glycoside componenet , oleandrin . Biochem . *Pharmacol* . , (2001) 15 (62) : 469 – 72 .

5.Sharma , P . ; Mohan , L . and Srivastavaa , CN . Larvicidal potential of Nerium indicum and thuja orientalis extracts against malaria and Japanese encephalitis vector . *J* . *Environ* . *Biol* . (2005) 26 (4) : 657 – 60 .

6.Farrukh , A . ; Mohammed , Moammir , H . A . and Hasan , M . lnhibition of 12 -o- tetra decanoylphorbol - 13 – acetate – induced tumor promotion markers in CD – 1 mouse skin by oleandrin . *Toxicc* . *and Applied pharmaco* . , . (2003) 195 (3) : 361 – 369 .

7.Jeong , S . E . ; Lee , Y . ; Hwang , J . H . and Knipple D . C . Effects of the sap of the common oleander Nerium oleander (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm Helicoverpa assulta (Lepidoptera) . *J* .*Experi* . *Biol* . (2001) 204 : 3935 – 3942 .

8.Maged , M . Y . and Mwafy , S . N . Protective potential of Glimepiride and Nerium oleander extract on lipid profile, body growth rate , and renal function in strepozotocin – induced diabetic rats . *Turk* . *J* . *Bio* . (2007) 13 : 95 – 102 .

9.Ad 'hiah ,A. H. ;Ghali,k.H.& El-Hassani,M.Brest cancer incidence among Iraqi females ,areport of 23 years. Al-Mustansiriya J. Sci. (2002b). 13:21-31.

10.Pnosyan , A . and AI – mukarish , S . M . Nerium oleander extract . Uni . Stat . *Pantent*.(2006) : 1 – 19 .

11.Erdemoglu , N . ; Kupeli , E . and Yesilada , E . Anti – inflammatory and antinociceptive activity assament of plants used as remedy in Turkish folk medicine . 1*: J* . *Ethnopharmacol* . , (2003) 89 (1) : 123 -129 .

12.Tahraoui , A . ; EL – hilaly , J . ; lsraili , ZH . And Lyoussi , B . Ethnopharm acological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south – eastern Morocco (Errachidia province) . 1 *: J* . *Ethnopharmacol* . (2006) 110 (1) : 105 – 17 .

13.Wang , X . ; Plomley , JB . ; Newman , RA . And Cisneros , A . LC / MS / MS analyses of an oleander extract for cancer treatment . *Anal* . *chem* . (2000) 12 (15) 1357 – 52 .

14.Ozel , H . Z . Extracts of Nerium species , methods of preparation and use therefore . *United states Patent* . (1992) 513 (4) : 1 – 27 .

15.Mdanderson cancer center . Herdal / olant therapies oleander (Nerium oleander) , Thevetia perviana . *Natural* , . (2008) sit wbe . P . 1 -5 .

16.Yu , MS . ; Wong , A . Y . ; So , KF . ; Fang , JN . ; Yuen , WH . And Chang , RC . New polysaccharide from Nerium indicum protects neronns via stress kinase signaling pathway . *Brain Res* . (2007) 11 (1153) : 221 – 30 .

17.Dasgupta , A . ; Kang , E . And Datta , P . The new enzyme – link immunosorbent digoxin assay on the ADVIA integrated modular system is virtually free form oleander interence . *Ther drug Monit* . (2006) 28 (2) : 282 – 5 .

18. Allen, J. W. ;Shuler, C. F. ; Mendes, R. W. & Latt, S. A. Asimplified technique for in vivo analysis of sister chromatidia exchanges using 5- bromo-deoxy uridine tablets. Cytogenet. Cell genet. ,(1977).18:231-237.

19.AI – yahya , MA . ; AI – farhan , AH . And Adam , SE . Toxicological interactions of cassia senna and Nerium oleander in the diet of rats . *Am . J .Chin Med* . (2002) 30 (4) : 579 – 87 .

20.Barbosa , RR . ; Fontenele – neto , And Soto – blanco , B . Toxicity in goats caused by oleander *(Nerium oleander*) . *Vet . Sci* . (2007) (19) : 1 – 19 .

21. M0ller, P. & Loft, S. Oxidative DNA damge in human white blood cells in dietary antioxidant intervention studies.Am. J. Clin. Nutr. (2002).76:303-310.

22.Aslani, R.;Movassaghi, A. R. ; Mohri, M. ; Abbasian, A. & Zarehpour, M. Clinical and pathological aspects of experimental oleander *(Nerium oleander)* toxicosis in sheep. *Vet. Res. Commun*, . (2004) Oct.;28(7):609-16.

23.Seong, E. J. ; Yun, L. ; Jeong, H. H.& Douglas, C. K. Effect of the sap of the common oleander *Nerium indicum* (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera, noctuidae) the *Journal of Experimental Biology* . 2001. 204, 3935-3942

24.Schmid,w. The cell micronucleuss test for cytogenenes analysis In:Hollender, A.(Ed.) Chemical Mutagens Principles and Methods for their Detection, Volume Four.Plenum press, New York and London.(1976),pp.31-53.

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

26. لبنية ، محي الدين ، عمر . كنوز النباتات الطبية في المدينة المنورة . (١٩٩٥) مجلة مركز بحوث ودراسات المدينة المنورة .

27. ابو العطا، نظمي، خليل (١٩٩٤) احدرو قلف هدا النبات : الدفلة /Oleander.منتدى العرب.

28. الدفلة،طب الاعشاب . منتدى الاخبار،٢٠١١.

29. الدفلى ، سنا للطب البديل ، مكتبة الاعشاب، ٢٠١٢.

Abstruct

The present study was designd to shed some light on the genetic effects of the flower extract of *Nerium oleander* .

The effects of the extract on the mutagenic action of the drug Mytomicine-c (MM-C) were also investigated invivo using albino mous *(Mus musculus*).The genetic tests included mitotic index of bone marrow, thymic, and spleenic cells,chromosomal aberrations, micronucleus formation in bone marrow cells, and sperm-head abnormality assay.

Three doses of extract were tested, they were(11, 22, 33mg/kg).The administration of extract when were given after the drug.Therefore, from the genetic point of view, the extract can be considered as direct desmutagenes in the first place and as biodesmutagenes in the seconed place.