

بعض التأثيرات الماعية لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء *Nerium oleander* في ذكور الفئران البيض *Mus musculus*.

ابتسام بداي حسان

مدرس مساعد / قسم علوم الحياة والاحياء المجهرية/ كلية العلوم/ جامعة ديالى

الخلاصة

صممت الدراسة الحالية لغرض تسليط الضوء على التأثيرات المناعية لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء *Nerium oleander*. كما درست ايضا قدرتها في الفعل المثبط مناعيا لعقار MM-C (Mytomicine-C) وذلك باستخدام الفأر المختبري *Mus musculus* كونه نظاما اختباريا حيويا (in vivo)، وبالاعتماد على بعض الفحوصات المناعية والتي شملت العد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض، ومعامل البلعمة لخلايا الخلب، وفعالية الانزيم ادينوسين دي امينيز (ADA) في مجانس خلايا التوتة. اختبرت ثلاث جرع من مستخلص زهرة الدفلة الحمراء وهي (11,22,33 ملغم/كغم). افصحت المعايير المدروسة فعلا واضحا لهذا المستخلص النباتي في تعزيز فعالية الجهاز المناعي، وكان هذا الفعل معتمدا على الجرعة.

Abstract

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

The effects of the extract on the immuno- suppressive action of the drug Mytomicine-C were also investigated in vivo using albino mouse (*Mus musculus*). The immunological tests included total and differential counts of leucocytes, phagocytic index of peritoneal cells and specific activity of adenosine deaminase in thymic cell homogenate.

Three doses of flower extract were tested, they were (11,22,33mg/kg) did not show negative effects on the activity of immune system of laboratory animals. In contrast, an obvious activating effects of this extract were observed regarding the activation of the immune system. This effect was dose – dependent as shown above.

المقدمة

يعد نبات الدفلة Nerium oleander أو سم الحمار من النباتات الطبية المهمة منذ أقدم العصور رغم سميته العالية إلا أن الإنسان استطاع أن يستفاد من هذه الصفة في علاج الكثير من الامراض (27).
 فقد استخدمه السومريون والبابليون في القرن الخامس عشر قبل الميلاد لعلاج الكثير من الامراض الجلدية وكغرغرة لعلاج امراض اللثة والاسنان، وايضا عرفه الرومان والاعريق كعلاج لتخفيف الدوار خصوصا لدى البحارة، اما العرب فكانوا الاوائل في اكتشاف القدرة العلاجية لهذا النبات ضد الامراض السرطانية والاورام الجلدية وكذلك في معالجة الام الظهر والمفاصل وايضا استخدموه كمبيد حشري ضد البراغيث (26). وفي العقود الاولى من هذا القرن وحتى يومنا هذا لازال نبات الدفلة يستخدم كمبيد نباتي فعال ضد لكثير من الآفات الزراعية والقوارض (11; 4; 26).

وقد كشفت الدراسات الحديثة النقاب عن استخدامات نبات الدفلة لعلاج الامراض القلبية إذ يستخرج منه مادة الكلايكوسيد الشبيه بالديجوكسين المنشطة لعضلات القلب (19). وايضا استخدم في علاج ارتفاع السكر في الدم (10; 14). وتوصلت دراسة حديثة مؤخرا بأن مستخلص زهرة الدفلة يحمي الاعصاب والخلايا العصبية من التلف (18). ويعد كمضاد للتسرطن لان له فعالية في تحفيز واستحثاث انتاج الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells في الانسان لقتل الخلايا السرطانية (2). واكدت الدراسات انه يعمل على وقف نمو الاورام السرطانية في الحيوانات (15; 7; 17). كسرطان البروستات (5). ويحدث تشوهات في الخلايا المولدة للنطف مما يسبب العقم لدى ذكور الحيوانات (25). ويعد كمضاد للالتهابات Anti-inflammatory (3; 13). واكدت دراسة اخرى على اهمية مستخلص نبات الدفلة في علاج الملاريا (6). والامراض الفايروسية كالتهاب الكبد الفايروسي انواع A, B, C (12). واثبتت دراسة حديثة ان نبات الدفلة يعزز الاستجابة المناعية من خلال تحفيز الخلايا على انتاج كاما-انترفيرون Y-interferon (12). وجاءت الدراسة الحالية لتسلط الضوء على بعض التأثيرات المناعية للمستخلص المائي لزهرة نبات الدفلة الحمراء Nerium oleander في ذكور الفئران البيض من خلال اجراء الفحوصات التالية (العد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض، واختبار معامل البلعمة لخلايا الخلب، واختبار قياس فعالية انزيم الاديوسين دي امينيز ADA).

المواد وطرائق العمل Materials and methods

1- حيوانات التجربة Experimental animals

استخدمت ذكور الفئران البيض Mus musculus من الصرب Balb/c وبمعدل عمر يتراوح بين (9-12) اسبوعا ووزن (25±3 غم) والتي جهزت من البيت الحيواني في كلية العلوم جامعة بغداد ووزعت في اقفاص لدائن وقد اعطيت الحيوانات الماء والعليقة المتكاملة القيمة الغذائية المصنعة محليا.

2- تصميم التجارب Experimental design

صممت لتقييم الدور الذي يؤديها المستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء في حماية وتطوير فعالية الجهاز المناعي في

هذه الحيوانات وقد تم تقسيم الحيوانات الى ثلاث مجاميع رئيسية وهي:

أ- المجموعة الاولى : حيوانات السيطرة السالبة المجرعة بالماء المقطر وتضم اربعة حيوانات.

ب- المجموعة الثانية: حيوانات السيطرة الموجبة المجرعة بالمايتومايسين-س (MM-C).

ج- المجموعة الثالثة: تضمنت هذه المجموعة ثلاث مجاميع ثانوية أذ جرعت حيواناتها ثلاث جرع من

المستخلص المائي لزهرة الدفلة وضمت:

• المجموعة الاولى: اربعة حيوانات جرعت بـ 0,250 مل من التركيز الاول 33ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة

اربعة ايام وفي اليوم الخامس تم تشريح الحيوانات.

• المجموعة الثانية: اربعة حيوانات جرعت بـ 0,250 مل من التركيز الاول 22ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة

اربعة ايام وفي اليوم الخامس تم تشريح الحيوانات.

• المجموعة الثالثة: اربعة حيوانات جرعت بـ 0,250 مل من التركيز الاول 11ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة

اربعة ايام وفي اليوم الخامس تم تشريح الحيوانات.

ت- تحضير المستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء: تم وزن 500ملغم من ازهار الدفلة الحمراء وغليها في

1000مل ماء مقطر في دورق بايركس ولمدة ثلاث ساعات وخلال الغليان نضيف الماء المقطر حتى

نحافظ على مستوى الماء (12). وبعد ذلك تم ترشيح المستخلص باوراق الترشيح حيث حصلنا على

المستخلص الجاف للزهرة وتم وزنه وحساب التراكيز الثلاث بعد اذابته بالماء المقطر اعتمادا على LD50

الذي يبلغ 110ملغم/كغم من وزن الجسم (24). حيث تم أخذ نسبة 30% منه للتركيز الاول و20% منه

لتركيز الثاني و10% منه للتركيز الثالث وكانت كالاتي:

• التركيز الاول 33ملغم/كغم.

• التركيز الثاني 22ملغم/كغم.

• التركيز الثالث 11ملغم/كغم.

وتم تجريب الحيوانات من كل تركيز بـ 0,250 مل فمويا واستخدمت جرعات خاصة لهذا الغرض.

3- اختبار العد الكلي لخلايا الدم البيض Total count of leukocytes : اتبعت طريقة (23). وكالاتي:

نظفت شريحة العد (Neumber chamber) والماصة الخاصة بتخفيف خلايا الدم البيض ثم سحبت عينة من الدم

الى العلامة (0,5) وخفف بمحلول تخفيف خلايا الدم البيض ثم مزج محلول التخفيف مع عينة الدم لمدة (5 دقائق) بعد ذلك تم

التخلص من 2-3 قطرات ثم وضعت قطرة واحدة على حافة شريحة العد وتركت مدة دقيقتين لكي تستقر الخلايا وبعدها حسب

عدد خلايا الدم البيض باستخدام المعادلة الاتية:

عدد الخلايا (خلية/مل³دم) = عدد الخلايا المحسوبة في اربع مربعات كبيرة × تصحيح الحجم × تصحيح التخفيف / 4 .

5-العد التفاضلي لخلايا الدم البيض Differential count of leukocytes

أخذت قطرة وعمل مسحة دموية (Smear) ثم تركت لتجف وبعد ذلك صبغت بصيغة ليشمان (Leishman's stain) وتركت لمدة خمس دقائق ثم غسلت بالماء الجاري وتركت لتجف . ثم فحصت بالعدسة الزيتية ثم حسبت النسبة المئوية لكل نوع باستخدام المعادلة الآتية :

$$\text{عدد الخلايا (خلية/ملم}^3\text{ دم)} = (\text{العدد الكلي لخلايا الدم البيض} \times \text{نسبة الخلايا}) \times 100 .$$

6-البلعمة Phagocytosis

تعد عملية البلعمة مقياساً للاستجابة المناعية الخلوية اللانوعية واجريت في خارج الجسم الحي (Invitro) بعد تخدير الفأر حقن بحجم (3مل) من المحلول الفسيولوجي المتعادل (Normal saline) في منطقة الخلب (Intraperitoneal) ويعمل مساج للمنطقة لمدة 3 دقائق وبعدها يجمع السائل ويعمل له طرداً مركزياً بسرعة (2000 دورة/دقيقة) لمدة خمس دقائق ثم أخذ معلق الخلايا واطيف له (0,1مل) من معلق الخميرة و(0,1مل) من مصل دم الانسان (AB) ومزج جيداً وحضن في الحاضنة بدرجة 37°م لمدة نصف ساعة ثم ساعة وحسبت كالاتي :

$$\text{معامل البلعمة \%} = \left[\frac{\text{عدد الخلايا الملتهمة}}{\text{العدد الكلي للخلايا الملتهمة وغير الملتهمة}} \right] \times 100 .$$

7-قياس فعالية انزيم الادينوسين دي امينيز ADA في مجانس خلايا التوتة Adenosine deaminase activity assay
 قيست فعالية انزيم ADA في مجانس خلايا التوتة حيث استأصلت الغدة من الحيوان واستخرجت الخلايا منها وضبط تركيزها (1×10⁶ خلية /ملم) باستخدام محلول دارئ الفوسفات المنظم . ولغرض قياس فعالية الانزيم في معلق الخلايا فقد اعيدت عملية التجميد والتذويب عدة مرات (Freezing & thawing) لغرض تكسير معظم الخلايا . قيست الفعالية للانزيم في المحلول المتجانس بالمطيف و بطول موجي (623نانو ميتر). وحددت الفعالية النوعية (Specific activity) لانزيم ADA وفقاً للمعادلة الآتية :

الفعالية النوعية (وحدة/ملغمبروتين) = الفعالية الحجمية / التركيز الكلي للبروتين .

الطرق الاحصائية:

تم تحليل النتائج احصائياً باعتماد أحد الانظمة الاحصائية والمسمى (SPSS) وفقاً للنموذج الاحصائي لتحليل التباين باتجاه وأحد (one way ANOVA test) مع استخدام أقل فرق معنوي (Least significance differences) وثبتت القيم على شكل (المعدل ± الخطأ القياسي).

النتائج Results

الجدول (1) معدل عد خلايا الدم البيض في الفئران المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة وفئران السيطرة

الاحتمالية	الخطأ القياسي	المعدل	المجاميع
	0,2	8,5	السيطرة السالبة (ماء مقطر)
$0,01 > \alpha$	0,3	4,3	السيطرة الموجبة (MM-C)
$0,01 > \alpha$	0,6	15,3	الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)
$0,01 > \alpha$	0,8	13,9	الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)
$0,01 > \alpha$	0,3	12,4	الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)

الجدول (2) معدل عد الخلايا اللمفاوية في الفئران البيض المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة وفئران السيطرة

الاحتمالية	الخطأ القياسي	المعدل	المجاميع
	0,6	8,5	السيطرة السالبة (ماء مقطر)
$0,01 > \alpha$	0,3	2,9	السيطرة الموجبة (MM-C)
$0,01 > \alpha$	0,6	8,8	الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)
$0,01 > \alpha$	0,5	7,2	الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)
$0,05 > \alpha$	0,4	6,1	الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)

الجدول (3) معدل عد الخلايا العدلة في الفئران البيض المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة وفئران السيطرة

الاحتمالية	الخطأ القياسي	المعدل	المجاميع
	0,1	2,3	السيطرة السالبة (ماء مقطر)
$0,05 > \alpha$	0,2	1,1	السيطرة الموجبة (MM-C)
$0,01 > \alpha$	0,8	4,5	الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)
$0,05 > \alpha$	0,7	3,6	الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)
$0,05 < \alpha$	0,4	2,9	الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)

الجدول (4) معدل عد الخلايا الوحيدة النوى في الفئران البيض الجرعة بمستخلص زهرة الدفلة وفئران السيطرة

المجاميع	المعدل	الخطأ القياسي	الاحتمالية
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	2,6	0,02	
السيطرة الموجبة (MM-C)	1,1	0,07	$0,05 > \text{أ}$
الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)	7,4	0,6	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)	7,0	0,3	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)	5,4	0,3	$0,01 > \text{أ}$

الجدول (5) معدل عد الخلايا الحمضة في الفئران البيض الجرعة بمستخلص زهرة الدفلة وفئران السيطرة

المجاميع	المعدل	الخطأ القياسي	الاحتمالية
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	0,05	0,002	
السيطرة الموجبة (MM-C)	0,10	0,004	$0,05 > \text{أ}$
الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)	0,04	0,001	$0,05 < \text{أ}$
الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)	0,05	0,001	$0,05 < \text{أ}$
الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)	0,05	0,002	$0,05 < \text{أ}$

الجدول (6) معدل معامل البلعمة بعد مرور 30 دقيقة في الفئران البيض وفئران السيطرة

المجاميع	المعدل	الخطأ القياسي	الاحتمالية
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	26,6	0,8	
السيطرة الموجبة (MM-C)	15,4	0,8	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)	47,3	1,4	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)	39,7	1,7	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)	33,3	0,9	$0,05 < \text{أ}$

الجدول (7) معدل معامل البلعمة بعد مرور 60 دقيقة في الفئران البيض وفئران السيطرة

المجاميع	المعدل	الخطأ القياسي	الاحتمالية
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	58,4	1,2	
السيطرة الموجبة (MM-C)	27,9	0,8	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)	89,8	1,9	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)	74,7	1,7	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)	66,6	1,9	$0,05 > \text{أ}$

الجدول (8) معدل الفعالية النوعية للانزيم ADA لخلايا التوتة في الفئران البيض وفئران السيطرة

المجاميع	المعدل	الخطأ القياسي	الاحتمالية
السيطرة السالبة (ماء مقطر)	84,7	0,4	
السيطرة الموجبة (MM-C)	43,8	0,2	$0,01 > \text{أ}$
الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم)	80,5	0,1	$0,05 < \text{أ}$
الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم)	76,3	0,5	$0,05 < \text{أ}$
الجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم)	76,6	0,8	$0,05 < \text{أ}$

النتائج Results

1- العد الكلي لخلايا الدم البيض :

بينت النتائج في الجدول (1) بان المعاملة بعقار المايتومايسين . سي (MM-C) ادى الى انخفاض العدد الكلي لخلايا الدم البيض حيث بلغ ($10^3 \times 4,3$ خلية/ملم³ دم) عند المقارنة بالسيطرة السالبة والتي كانت ($10^3 \times 8,5$ خلية/ملم³ دم) في ذكور الفئران البيض بحيث شكل هذا فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 > \text{أ}$). وعند اعطاء مستخلص زهرة الدفلة الحمراء الجرعة الاولى (33 ملغم/كغم) لوحظ زيادة في المعدل حيث بلغ ($10^3 \times 15,3$ خلية/ملم³ دم) وكذلك عند اعطاء الجرعة الثانية (22 ملغم/كغم) حيث بلغ المعدل ($10^3 \times 13,9$ خلية/ملم³ دم) وايضاً للجرعة الثالثة (11 ملغم/كغم) حيث بلغت الزيادة في المعدل ($10^3 \times 12,4$ خلية/ملم³ دم) بحيث شكل هذا فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 > \text{أ}$) عند مقارنتها بالسيطرة السالبة .

2- العد التفرقي لخلايا الدم البيض :

تشير النتائج في الجدول (2) الى وجود انخفاض في معدل الخلايا اللغافية عند المعاملة بعقار MM-C والتي كانت ($10^3 \times 2,9$ خلية/ملم³) مقارنة بالسيطرة السالبة والتي كانت ($10^3 \times 5,8$ خلية/ملم³) وهذا يشكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) وعند اعطاء الجرعة الاولى (33ملغم/كغم) من مستخلص زهرة الدفلة سجل ارتفاعاً بلغ ($10^3 \times 8,8$ خلية/ملم³) وكذلك الجرعة الثانية (22ملغم/كغم) حيث بلغ المعدل ($10^3 \times 7,2$ خلية/ملم³) وهذان اكتسبا فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) اما الجرعة الثالثة (11ملغم/كغم) فقد بلغ المعدل ($10^3 \times 6,1$ خلية/ملم³) فلم تسجل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 <$) مقارنة بالسيطرة السالبة .

تشير نتائج جدول (3) الى وجود انخفاض في معدل الخلايا العذلة حيث بلغ ($10^3 \times 1,1$ خلية/ملم³) عند اعطاء العقار MM-C مقارنة بالسيطرة السالبة والتي بلغت ($10^3 \times 2,3$ خلية/ملم³) وهذا شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 >$) . وعند اعطاء الجرعة الاولى لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء سجل ارتفاعاً ملحوظاً حيث بلغ المعدل ($10^3 \times 4,5$ خلية/ملم³) وهذا شكل فرقاً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) مقارنة بالسيطرة السالبة وعند اعطاء الجرعة الثانية من المستخلص أيضاً سجل ارتفاع بلغ ($10^3 \times 3,6$ خلية/ملم³) وشكل هذا فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 >$) مقارنة بالسيطرة السالبة . ولكن عند اعطاء الجرعة الثالثة من المستخلص لم يسجل فرقاً معنوياً حيث بلغ المعدل ($10^3 \times 2,9$ خلية/ملم³) مقارنة بالسيطرة السالبة .

بينت النتائج في الجدول (4) ان المعاملة بعقار MM-C (السيطرة الموجبة) ادت الى انخفاض في معدل الخلايا وحيدة النوى حيث بلغت ($10^3 \times 1,1$ خلية/ملم³) مقارنة بالسيطرة السالبة والتي بلغت ($10^3 \times 2,6$ خلية/ملم³) وهذا شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 >$) . بينما عند اعطاء الجرعة الاولى والثانية والثالثة من مستخلص زهرة الدفلة الحمراء سجلت الجرع ارتفاعاً ملحوظاً حيث بلغت وعلى التوالي ($10^3 \times 7,4$ خلية/ملم³) ، ($10^3 \times 7,0$ خلية/ملم³) ، ($10^3 \times 5,4$ خلية/ملم³) مما شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) مقارنة بالسيطرة السالبة . وتشير نتائج الجدول (5) ان اعطاء عقار MM-C لم يظهر فرقاً معنوياً مع السيطرة السالبة حيث بلغ ($10^3 \times 0,07$ خلية/ملم³) وهذا ماسجلته الجرع الثلاث لمستخلص زهرة الدفلة عند مستوى دلالة ($0,05 <$) مقارنة بالسيطرة السالبة وبالباغلة ($10^3 \times 0,05$ خلية/ملم³) .

3- معامل البلعمة بعد مرور 30 دقيقة :

اظهرت النتائج في الجدول (6) ان المعاملة بعقار MM-C ادى الى انخفاض في معدل معامل البلعمة فقد بلغ (15,4%) في ذكور الفئران البيض عند المقارنة بالسيطرة السالبة والتي كانت (26,6%) وشكل هذا الاختلاف فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) . وسجلت الجرعتين الاولى والثانية من مستخلص زهرة الدفلة الحمراء ارتفاعاً ملحوظاً حيث بلغ معدل الجرعة الاولى (47,3%) والثانية (39,7%) وهذا شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) مقارنة بالسيطرة

السالبة . اما الجرعة الثالثة فقد بلغت (33,3%) وايضاً شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 >$) مقارنة بالسيطرة السالبة

4- معامل البلعمة بعد مرور 60 دقيقة :

اوضحت النتائج في الجدول (7) ان المعاملة بعقار MM-C ادى الى انخفاض معدل معامل البلعمة فقد بلغ (27,9%) مقارنة بالسيطرة السالبة والتي كانت (58,4%) وهذا الاختلاف شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) . وعند اعطاء الجرعة الاولى من المستخلص بلغ المعدل (89,8%) وللجرعة الثانية بلغ المعدل (74,7%) حيث سجل ارتفاعاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,01 >$) مقارنة بالسيطرة السالبة . وعند اعطاء الجرعة الثالثة بلغ المعدل (66,6%) وهذا شكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 >$) مقارنة بالسيطرة السالبة .

4- معدل الفعالية النوعية لانزيم ADA في مجانس خلايا التوتة :

بينت النتائج المدونة في الجدول (8) ان المعاملة بعقار MM-C ادى الى انخفاض في مستوى الفعالية النوعية لانزيم ADA ف سجل قيمة بلغت (43,8 وحدة/ملغم بروتين) في ذكور الفئران البيض عند المقارنة بالسيطرة السالبة والتي بلغت (84,7 وحدة/ملغم بروتين) بحيث اكتسب هذا الانخفاض الدلالة الاحصائية ($0,01 >$) . اما عند اعطاء مستخلص زهرة الدفلة الحمراء بجرعة الثلاث لم تشكل فرقاً معنوياً عند مستوى دلالة ($0,05 <$) مقارنة بالسيطرة السالبة .

المناقشة Discussion

اوضحت النتائج المبينة في الدراسة الحالية بأن المستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء له تأثيرات مختلفة في الجهاز المناعي للفئران البيض ، كما ان هذه التأثيرات قد اختلفت ايضاً باختلاف العامل المناعي المدروس ، فعلى صعيد العد الكلي لخلايا الدم البيض نجد ان هذا المستخلص النباتي قد ساهم ايجابياً في زيادة معدل العد لهذه الخلايا ، وقد شمل ذلك بصورة اساسية الخلايا للمفاوية والعدلة ووحيدة النوى ، الا ان الخلايا الحمضة جاءت استثناءً من ذلك ولم تتأثر بهذا المستخلص النباتي . ان الصورة العددية لهذه الخلايا سواء كانت كلية (العد الكلي لخلايا الدم البيض) أو الفردي (العد التفريقي لخلايا الدم البيض) يمكن ان تعطي صورة عامة عن فعالية الجهاز المناعي باعتبار هذه الخلايا هي العناصر الاساسية في الاستجابة المناعية سواء كانت نوعية او لانوعية حيث قد تتأثر سلباً (انخفاض العد) أو ايجاباً (ارتفاع العد) في حالات الاصابات الفايروسية والبكتيرية (16; 13; 6). في الدراسة الحالية ورغم ارتفاع معدل عد خلايا الدم البيض في الفئران المختبرية المجرعة بمستخلص زهرة الدفلة الحمراء، ألا ان هذا العدد كان ضمن المدى الطبيعي لمعدل هذه الخلايا في الحيوانات المدروسة رغم اقترابه من الحدود العليا اكثر مما هو عليه للحدود الدنيا للعد. وفي هذا الصدد تجدر الاشارة الى ان الجرعة الاولى (33ملغم/كغم) رفعت معدل عد خلايا الدم البيض الى حدود اعلى من الطبيعية حيث ارتفع معدل عد الخلايا الى (15,3)

$10^3 \times$ خلية/ملم³ دم)، وهذا يؤكد أهمية دراسة الجرعة العالية لهذا المستخلص النباتي اعتمادا على LD50 ومدى تأثيرها في الجهاز المناعي ، مع علمنا بأن عدد خلايا الدم البيض في الدم المحيطي ربما يعبر عن الصورة العامة لفعالية الجهاز المناعي . أن هذا الجهاز يعتمد بصورة اساسية على الاتصالات ما بين الخلايا للوصول بوظيفته الى حدودها القصوى وبالتالي فإن أي تدخل في نقل الاشارات الخلوية (inter and inter cellular signaling) يكون عاملا مؤثرا في اداء الوظيفة المناعية (8). وهذا قد يفسر تأثير المستخلص المائي لزهرة الدفلة الحمراء في عد خلايا الدم البيض او في فعاليات مناعية اخرى مثل البلعمة ، خصوصا عند المقارنة ما بين هذا المستخلص والعقار المثبط للجهاز المناعي MM-C بحيث اوضحت النتائج اثرا ايجابيا فاعلا في كبح الفعل المثبط لهذا العقار ، وهذا ربما يفسر في ضوء كون هذا المستخلص النباتي من مضادات الاكسدة anti-oxidants (15; 2; 3). وقد اوضحت الدراسات بأن مستخلص نبات الدفلة يعمل على تعزيز فعالية الجهاز المناعي من خلال تأثيره في الخلايا للمفاوية التائية المساعدة (CD4+ Cells) وانتاج كاما- انترفيرون (Y- interferon) وتأثيره على المستلمات على سطح الخلايا (12) وكذلك استحثاث وتحفيز الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells (2). وهذا ما لوحظ في الدراسة الحالية حيث ساهم المستخلص وجرعاته الثلاث في رفع قيم معدل عد الخلايا وحيدة النوى مقارنة بالسيطرة السالبة حيث كانت الفروق معنوية ، وبالتالي نجد ان خلايا الدم البيض لاسيما الخلايا البلعمية تسيطر على الاصابات الفايروسية والبكتيرية والطفيلية من خلال تحطيمها كيميائيا، ان نتائج الدراسة الحالية تدعم ماتقدم فقد لوحظ ارتفاع قيم معامل البلعمة بعد مرور 30 أو 60 دقيقة للجرع الثلاث مقارنة بالسيطرة السالبة. وقد وجدت الدراسة الحالية ان اعطاء المستخلص النباتي بجرعه الثلاث لم يؤثر في مستوى الفعالية النوعية لانزيم ADA عند المقارنته بالسيطرة السالبة. وهذا يعني المحافظة على وظيفة الجهاز المناعي لان نقص هذا الانزيم يتسبب في نقص مناعي شديد مؤديا الى نقص في اعداد الخلايا للمفاوية وبالتالي تتأثر كل من الاستجابتين المناعيتين الخلوية والخلوية (1). والمحصلة النهائية للدراسة الحالية ان لمستخلص زهرة الدفلة الحمراء أهمية في تعزيز ودعم الجهاز المناعي ، اذا استخدم بجرع مناسبة مع الاخذ بعين الاعتبار LD50 الذي يبلغ حوالي 110 ملغم/كغم من وزن الجسم (24). بحيث لا تؤثر على حياة الانسان او الحيوان لان هذا النبات سام جدا فيجب الحذر عند استعماله.

Refernces المصادر

1. Young , H . W . ; Molina , J . D . ; Dimina , D . ; Zhong , H . ; Jacobson , M . ;
Chan , L . N . ; Chan , T . S . ; Lee , J . J . & Blackburn , M . R . A3 Adenosine receptor
signaling contributes to airway inflammation and mucus production in adenosine deaminase
deficient mice . *J . Immunol .* , . (2004) 173 : 1380-1389.
2. 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 .
3. 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 . Taraxasterane – and ursane
– type triterpenes from Nerium oleander and their biological activities . *J . Nat . Prod .*
(2006) 69 (8) : 1164 – 7 .
4. Dasgupta , A . and Datta , P . Rapid detection of oleander poisoning using digoxin immuno
assay . comparison of five assays . *Ther drug Monit* (2004).26 (6) : 658 – 63 .
5. Smith , JA . ; Madden , T . ; Vijjeswarapu , M . and Newman , RA . Inhibition of export of
fibroblast growth factor – 2 (FGF - 2) from the prostate cancer cell lines PC3 and 145 by
anvirzel and its cardiac glycoside component , oleandrin . *Biochem . Pharmacol .* , (2001)
15 (62) : 469 – 72 .
6. Sharma , P . ; Mohan , L . and Srivastava , CN . Larvicidal potential of Nerium indicum and
thuja orientalis extracts against malaria and Japanese encephalitis vector . *J . Environ . Biol .*
(2005) 26 (4) : 657 – 60 .
7. Farrukh , A . ; Mohammed , Moammir , H . A . and Hasan , M . Inhibition of 12 -o- tetra
decanoylphorbol - 13 – acetate – induced tumor promotion markers in CD – 1 mouse skin by
oleandrin . *Toxicol . and Applied pharmacol .* , . (2003) 195 (3) : 361 – 369 .
8. Hughes , D . A . Dietary carotenoids and human immune function . *Nutrition* , . (2001) 1 : 823
– 827 .
9. 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 .
- 10.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 streptozotocin – induced diabetic rats . *Turk . J . Bio .* (2007) 13 : 95 – 102 .
- 11.Wikipedia . Org / wiki / oleander . (2007) . [http : // en .](http://en)
- 12.Pnosyan , A . and AI – mukarish , S . M . Nerium oleander extract . *Uni . Stat . Patent* . (2006) : 1 – 19 .
- 13.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 .
- 14.Tahraoui , A . ; EL – hilaly , J . ; Israili , 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 .
- 15.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 .
- 16.Ozel , H . Z . Extracts of Nerium species , methods of preparation and use therefore . *United states Patent .* (1992) 513 (4) : 1 – 27 .
- 17.Mdanderson cancer center . Herdal / olant therapies oleander (*Nerium oleander*) , *Thevetia perviana* . *Natural* , . (2008) sit wbe . P . 1 -5 .
- 18.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 .
- 19.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 .
- 20.Inchem , R. *Nerium oleander* L . (PIM 366) . IPCS . *Inchem Retrieved* on 2005 – 10 – 23 .
- 21.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 .



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

23.Haen , P . J Principles of hematology . Edited by L . H . Young , W . B . publishers , London . (1995)

24.Asiani, 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.

25.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.

26. لبنية ، محي الدين ، عمر . كنوز النباتات الطبية في المدينة المنورة . (1995) مجلة مركز بحوث ودراسات المدينة المنورة .

27. ابو العطا، نظمي، خليل (1994) احدرو قلف هذا النبات : الدفلة /Oleander.