

دراسة نسجية لمقارنة تأثير المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ *Withania somnifera* و عقار الهيدروكورتيزون في الفئران البيض

شيلان خير الله جبار¹ علي هاشم الموسوي² امنة نصيف جاسم²

¹كلية العلوم جامعة كركوك، كركوك، العراق

²كلية العلوم للبنات جامعة بغداد، بغداد، العراق

الملخص

أظهرت نتائج الدراسة الكيميائية احتواء المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ على اغلب المواد الفعالة كالفلافونيدات Alkaloid والفلافونيات flavones والصابونيات Sabonines والدباغيات Tanines والكلايكوسيدات Glycoside والتربينات Terpinens والستيرويدات steroids. قسمت الحيوانات الى ثلاث مجاميع جعلت المجموعة الاولى بالمستخلص الكحولي عن طريق الفم بمقدار 0.1 مل وبتكرير 100 ملغم/كغم من وزن الجسم اما المجموعة الثانية فجرعت بعقار الهيدروكورتيزون بتركيز 0.033 ملغم/فار الواحدة بينما عدت المجموعة الثالثة كسيطرة وكانت مكدة التجريع 5 ايام. اظهرت النتائج تغيرات نسجية تمثلت بفرط التتسج hyper plasia لللب الابيض والاحمر لطحال الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لسم الفراخ مع ارتشاح خلايا النواء mega karucyte قياسا بفئران مجموعة السيطرة. اما بالنسبة لأكباد الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي ف لوحظ بارتشاح بسيط لخلايا PMN poly morphoneuclear celles (PMN) وظهور بعض الخلايا البلعية. ولم يلحظ فروقات معنوية في اوزان الاعضاء. في حين اظهرت النتائج ازدياد اوزان الكبد والطحال معنويا في الفئران المعاملة لعقار الهيدروكورتيزون و حصول تغيرات نسجية تمثلت بتتخر كبير في الطحال و الكبد واحتقان شديد في الاوعية الدموية

المقدمة Introduction

كذلك لوحظ أن مستخلص جذور نبات سم الفراخ له فعالية مضادة لتكوين البيروكسيد Antiperoxidation لأنسجة الكبد وبالمقابل فهو يزيد من فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة في ذكور الفئران وزيادة أنزيم (Glucose-6-phosphatase (G-6-Pase في الكبد، وبما انه مضاد للأكسدة فهو يقلل من عملية Lipid Peroxidation في الكبد (9). الهدف من البحث هو دراسة تأثير المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ *Withania somnifera* على عضوين من أعضاء الجسم هما الكبد والطحال ومقارنتها بتأثير عقار الهيدروكورتيزون وذلك بعمل مقاطع نسجية لكل من الكبد والطحال وملاحظة التغيرات النسجية الحاصلة فيهما

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة باستخدام ذكور فئران مختبرية بيضاء albino mice تراوحت أعمارها (8-10) أسابيع عند بداية التجريع وتراوحت أوزانها (18-22) غم وقسمت الفئران إلى ثلاث مجاميع إذ جرعت المجموعة الاولى بالماء المقطر كسيطرة والمجموعة الثانية بعقار الهيدروكورتيزون أما المجموعة الثالثة فجرعت فمويا بالمستخلص الكحولي 2.2 ملغم/كغم باليوم الواحد وبحجم 0.03 مل .

1 - تحضير المستخلص الكحولي الحار لنبات سم الفراخ

تم جمع أوراق النبات من حدائق كلية العلوم/جامعة بغداد، إذ تم غسل أوراق النبات ومن ثم تركت لتجف في درجة حرارة المختبر، وبعد التجفيف تم طحنها لغرض الحصول على مسحوق الأوراق والذي استخدم لاحقاً في تحضير المستخلص الكحولي الحار (10). وقد تم الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي باستخدام طرق الكشف الكيميائي العام .

2 - تحضير عقار الهيدروكورتيزون Hydrocortisone solution

حضر المحلول من عقار الهيدروكورتيزون بمزج 0.5 مل من العقار السائل 50 ملغم/مل مع 49.5 مل من الماء المقطر، وجرع كل حيوان

يسمى هذا النبات بسم الفراخ أو الونانيا أو Winter cherry ويسمى أيضا كتاجي هندي Ashwagandha. ينتمي هذا النبات إلى العائلة الباذنجانية Solanaceae، ويوجد في العراق في السهل الرسوبي الأوسط وفي المستنقعات الجنوبية (1)، وفي بغداد يزرع في حدائق الزعفرانية كنبات زينة وتبذر البذور عادة في أيلول وتزه في كانون الأول وتتضج الأزهار في كانون الثاني (2).

يشغل المرتبة الأولى في قائمة الأعشاب الطبية في الهند وعدد من الدول الآسيوية، إذ يعد من الأدوية المفضلة في علاج التهاب المفاصل الرثوي ويعد دواء مقويا عاما وفي الحماية ضد الإصابة بالأمراض (3) أجريت العديد من الدراسات لتحديد الأهمية الطبية للونانيا إذ اشارت إلى أن نبات سم الفراخ له العديد من الفعاليات فهو مضاد للسرطان ومضاد للالتهابات والإجهاد Anti-stress والأكسدة Anti-oxidant ويزيد من الفعالية المناعية ويحفز نقي العظم على إنتاج الكريات الدموية (4) .إن الودافيرين Withaferin المعزول من نبات سم الفراخ فعال في معالجة التهاب المفاصل من دون أي أثر جانبي عند موازنته باستخدام علاج الكورتيزون (5) . كذلك أوضح الباحثون Dahanukar وجماعته (6) أن نبات سم الفراخ يعمل على حماية الحيوانات من الأمراض في الحالات الطبيعية وفي الحيوانات المثبطة مناعياً بواسطة الاستئصال الجزئي للطحال Hemi splenectomy أو الجراحة. كما لوحظ إن مستخلص الونانيا المتألف من تراكيز متساوية من Sitindoside VII-X والودافيرين A- (Withaferin-A) يستحث زيادة مستويات الأنزيمات المزيل للجزور الحرة مثل (GTP); Glutathione peroxi dase (SOD) Super oxide dismutase (CAT) Catalase في دماغ الفئران، وهذا منسجم مع البحوث التي أشارت إلى الفعالية المضادة للأكسدة (7) . وهذا يشير إلى امتلاك مسحوق نبات سم الفراخ الفعالية المزيل للجزور الحرة التي يعود إليها معظم الفعاليات الصيدلانية (8).

بـ 0.066 مل التركيز 0.033 ملغم/فأرة يومياً ولمدة خمسة أيام. وحسبت هذه الجرعة في ضوء الجرعة الدوائية للإنسان 1,54 ملغم/كغم.

3- عزل الأعضاء

بعد سحب الدم من الحيوانات تم قتلها وفتح البطن طولياً وأخذت نماذج من الأعضاء (الكبد، الطحال) ووضع في أطباق بتري تحتوي على المحلول الملحي الفسلجي لغرض إزالة النسيج الدهنية والرابطة العالقة فيها، ثم تم وزن الأعضاء بالميزان الحساس لحساب النسبة المئوية لأوزان الأعضاء نسبة إلى كل 100 غم من وزن الجسم، ثم حفظت العينات في قناني حاوية على مثبت بوين لتحضير شرائح نسجية منها .

تحضير المقاطع النسجية

بعد أن تم تثبيت العينات fixation لمدة 24 ساعة في 10 % فورمالين ، وبعد التثبيت تم غسل العينات بالماء الجاري للتخلص من بقايا المثبت ، وبعد ما أجريت عليها سلسلة من العمليات المتتالية وحسب الطريقة الموصى بها من قبل Bancrofti & Stevens (11). بعد تحضير الشرائح فحصت بالمجهر الضوئي نوع Motic.

التحليل الإحصائي :

حللت البيانات وفق تحليل التباين باتجاهين وذلك باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز (SPSS) .

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي العام لبعض المكونات الفعالة (القلويدات Alkaloids، الكلايكوسيدات Glycosides، الفينولات Phenols، الفلافونيدات Flavonoids، الصابونينات Saponins، السدباغيات Tannins، الكومارينات Coumarins، الراتجات Resins، التربينات Terpins والسترويدات Steroids . باحتواء المستخلص الكحولي لسقم الفراخ على جميع المركبات الأساسية المذكورة وهذه النتيجة تتفق مع ما أشار إليه كل من العوادي (12) والخفاجي (13) .

تأثير المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ وعقار الهيدروكورتيزون في معدلات أوزان الكبد والطحال

تشير معدلات أوزان الأعضاء (الطحال Spleen ، الكبد Liver) الموضحة في الجدول (1) إلى حصول ارتفاع في معدلات أوزان أعضاء الفئران المعاملة بالهيدروكورتيزون إلا إن هذه الزيادة لم تكن ذو دلالة إحصائية بالنسبة لمعدل وزن الطحال في حين كانت الزيادة معنوية ($P < 0.05$) بالنسبة لأوزان الكبد وذلك عند موازنتها بأوزانها في فئران مجموعة السيطرة السالبة. أشارت الدراسات السابقة إلى إن إعطاء عقار الهيدروكورتيزون للفئران يؤدي إلى انخفاض في وزن الطحال والغدة الصعترية (التوتة) بينما يزداد وزن كل من الكبد والقلب والكلى (14) وهذا ما أكدته نتائج الدراسة الحالية بالنسبة لأوزان الكبد في مجاميع الفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون وقد يعزى السبب في ذلك إلى تأثير الهيدروكورتيزون على احتباس السوائل والأملاح في الجسم مما ينتج عنه زيادة الوزن (15). بينما لوحظ ازدياد أوزان الأعضاء في مجموعة الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لسقم الفراخ وإن الزيادة الحاصلة في وزن الطحال ناتج من تأثير المواد الفعالة (المركبات الستيرويدية ، القلويدات ، الصابونينات ، الزيوت الطيارة) في

المستخلصات والتي سببت زيادة انقسام الخلايا للمفاوية (الثائية و البائية) الموجودة في الطحال وتكاثرها وبالتالي زيادة وزن الطحال .

أما الزيادة في أوزان أكباد الفئران المجرعة بالمستخلص الكحولي قد يعود إلى احتواء المستخلص الكحولي على الأحماض الامينية الحرة مثل الاسبارتك والكلوتاميك والكلايسين والبرولين والليستين والثايروسين والتربتوفان كأحماض امينية اساسية تساهم في تركيب البروتينات (16) . وإن هذه الزيادة الحاصلة في أوزان الاعضاء تتفق مع ما توصل اليه الباحث العتابي (17) في زيادة أوزان الأعضاء عند المعاملة بالمستخلصات سم الفراخ . كما إن الزيادة في وزن الكبد قد تعود إلى احتواء المستخلصات على مادة الصابونين Saponin التي تعمل على خفض تركيز الكلوكون في الدم والذي يؤدي بدوره الى زيادة بناء الكلوكون للتعويض عن النقص الحاصل فينتج عنه زيادة بناء الكلوكون في الكبد وخرنه بشكل كلايكون في خلايا الكبد ومن ثم زيادة الوزن (9) .

الدراسة النسجية

1 - التغيرات النسجية لطحال الفئران المعاملة بالهيدروكورتيزون

أظهر الفحص المجهرى للشرائح النسجية المصبوغة لطحال الفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون حصول تغيرات نسجية واضحة إذ لوحظ ارتشاح خلايا النواء Megakaryocytes وتنكس Degeneration غالبية الخلايا للمفاوية وتنخر Necrosis معظم النسيج الشكل (1) كذلك لوحظ احتقان دموي Congestion شديد في الاوعية الدموية الشكل (2). تفق نتائج الدراسة الحالية مع ما جاءت به دراسة الحمدان (18) التي تناولت تأثير الهيدروكورتيزون في نسيج الطحال والتي أشارت إلى حدوث زيادة في الخلايا البلمعية التي ارتبطت بزيادة نفاذية الأوعية الدموية، إذ أن الضرر الحاصل في النسيج وحصول التهاب تعد من العوامل التي تؤدي إلى زيادة ارتشاح خلايا متعددة أشكال النوى (PMN) Polymorphonuclear cell مما يسمح لهذه الخلايا بالنفاذ إلى المنطقة المتضررة لتؤدي عملها.

التغيرات النسجية لطحال الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لسقم الفراخ :-

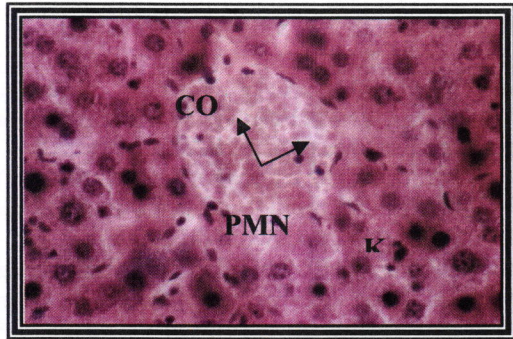
بينت نتائج الدراسة النسجية لطحال الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لسقم الفراخ فرط تنسج اللب الأبيض والأحمر مع ارتشاح خلايا النواء Megakaryocytes الشكل (3). وقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة الباحث العتابي (17) وهذا يفسر كبر حجم الطحال . وثابت الباحثين إن المقاطع النسجية لطحال الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي كانت مشابهة لتلك المقاطع الملاحظة في فئران مجموعة السيطرة (19) .

الدراسة النسجية للكبد

1 - بينت نتائج الفحص المجهرى للمقاطع النسجية للكبد في الفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون تغيرات نسجية ملحوظة أهمها حدوث تنخر الخلايا الكبدية والخلايا البطانية للأوعية الدموية وارتشاح خلايا الالتهاية PMN بين الخلايا الكبدية الشكل (4) وهذا ما يؤدي إلى تكون Odema في الكبد وبالتالي كبر حجم الكبد وزيادة وزنه في نتائج



شكل (4) مقطع مستعرض في نسيج الكبد للفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون يوضح وجود الاحتقان الدموي CO وتنخر N الخلايا البطانية للأوعية الدموية والخلايا الكبدية. (صبغة H&E، قوة التكبير 10X40).



شكل (5) مقطع مستعرض في نسيج الكبد للفئران المعاملة بمستخلصات سم الفراخ يوضح وجود احتقان دموي CO وارتشاح خلايا PMN مع ظهور بعض الخلايا البلعمية K. (صبغة H&E، قوة التكبير 10X40).

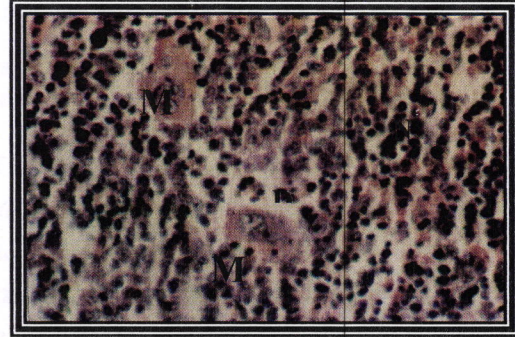
جدول (1) تأثير المستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ و عقار الهيدروكورتيزون في معدلات اوزان اعضاء الجسم (اوزان الاعضاء لكل 100 غم من وزن الجسم)

الكبد (SE±M)		الطحال (SE±M)		
كحولي	مائي	كحولي	مائي	
b 0.05±3.29		a 0.01±0.31		السيطرة السالبة
ab 0.52±4.75		a 0.08±0.52		السيطرة الموجبة (الهيدروكورتيزون)
a,A 0.29±5.6	a,A 0.46±5.04	a,A 0.06±0.53	a,A 0.04±0.4	سم الفراخ

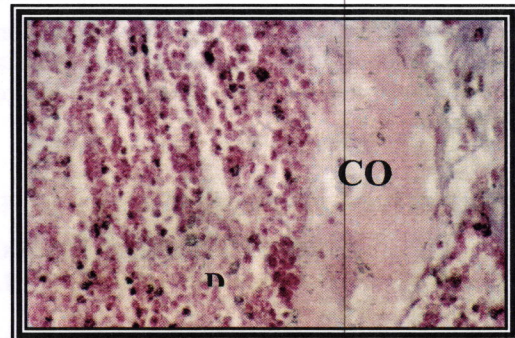
* الحروف الكبيرة المختلفة (A, B) تعني وجود فرق معنوي عمودياً (P<0.05).

* الحروف الصغيرة المختلفة (a, b, c, d) تعني وجود فرق معنوي افقياً (P<0.05).

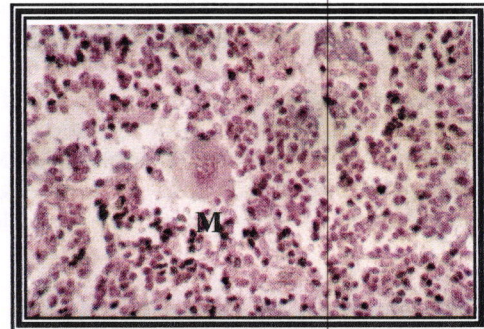
الدراسة الحالية وهذا يتفق مع دراسة Rogers & Rogers (14) في كون الهيدروكورتيزون بسبب زيادة وزن الكبد .
2 - بينت نتائج الدراسة النسيجية للكبد في الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لنبات سم الفراخ وجود احتقان دموي Congestion وارتشاح بسيط في خلايا PMN مع ظهور بعض الخلايا البلعمية الشكل (5) وهذه النتيجة تتفق مع ما توصل اليه العتابي (17) من ان المستخلص الكحولي لأوراق سم الفراخ سبب ظهور بعض التغيرات المرضية البسيطة تمثلت بانتفاخ الخلايا مع احتقان الجيبانيات نتيجة لكبر حجم الخلايا مع احتقان بسيط في الاوردة المركزية وتجمع بسيط للخلايا اللمفية والعذلات حول الوريد المركزي المحتقن .



شكل (1) مقطع مستعرض في منطقة اللب الأحمر في طحال الفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون يظهر فيه ارتشاح خلايا النواء M وتنكس الخلايا اللمفاوية D وتنخر N النسيج (H&E، قوة التكبير 10X40).



شكل (2) مقطع مستعرض في منطقة اللب الأحمر في طحال الفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون يوضح الاحتقان الدموي CO وتنكس الخلايا اللمفاوية D (H&E، قوة التكبير 10X40).



شكل (3) مقطع مستعرض في طحال الفئران المعاملة بمستخلصات سم الفراخ يوضح فرط تنسج اللب الأحمر وارتشاح خلايا النواء M (صبغة H&E، قوة التكبير 10X40).

المصادر

1. مجيد، سامي هاشم ومحمود ، مهند جميل . 1988 . النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي ، مجلس البحث العلمي ، مر عن بحوث علوم الحياة ، قسم العقاقير وتقسيم الادوية .
2. Al-Rawi, A. & Chakravarty, H.L. (1964). Medicinal plants of Iraq National Herbarium of Iraq. Ministry of Agriculture, Baghdad, Iraq.
3. Bone, K. (1996) Clinical Applications of Ayurvedic and chinese Herb Mono graphs for the Western Herbal practitioner . Australa :Phyto therapy Press .137-141 .
4. Mishra, L.C; Singh, B.B. and Dagenais, S. (2000). Scientific basic for the therapeutic use of *Withania somnifera* (ashwagandha) Alter. Med.Riv. 5(4):334-346.
5. Chada, Y.R. (1976).the wealth of India (Raw materials) .pp,580-585.
6. Dahanukar SA; Rege NN. & Thatt UM. (1997). Adeptogers In: Ed. Medicinal plants, their bioactivity, screening and evaluation- proceedings of the International workshop, CDRI, Lucknow (India), December 2-5: 143-63.
7. Bhattacharya, S.K.; Satyan, K.S & Goshal, S. (1997). Antioxidant activity of glycowithanolides from *Withania somnifera* .Indian J.Exp.Biol.Mar.35(3):236-9.
8. Panada , S. & Kar, A (1997). Evidence for free radical scavenging activity of Ashwagandha Powder in mice. Indian J. Physial . Pharmacal. 41 (4): 424-6. (Abstract).
9. Panada, S. & Kar, A (1999). *Withania smnifera* and *Bauhinia Pupurea* in the regulation of circulating thyroid hormone concentrations in mice- J. Ethnopharmael: 97 (2) :233-9.
10. Harborn, J.B. (1984). phytochemical methods. 2^{ed} (Ed.). Chapman and Hall.P.288.
11. Bancroft, J. D. & Stevens, A. (1982). Theory and practice of histological techniques. 2nd (Gd.) Churchill living stone, Edinburgh, london, pp :662 .
12. العوادي ، سلوى جابر عبد الله. 1993. دراسة الفعالية المضادة لنمو الجراثيم والقابلية التطهيرية لبعض الاعشاب الطبية المحلية واهميتها كمضادات حيوية . رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد.
13. الخفاجي، باسمه ربيع احمد. 2000. تأثير مستخلصات نباتات سم الفراخ والميرمية والصفصاف على نمو بعض الفطريات الجلدية . رسالة ماجستير / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية.
14. Rogers, P. & Rogers, A. (1982). Differential sensitivity of lymphocyte subsets to corticosteroid treatment. Immunol. 46 (4): 841 -848.
15. Smith, S.L. (2002). Immunosuppressive therapies in organ transplantation. Mn Phd .web site: <http://www.medscape.com/viewarticl/437182>.
16. Csir, S. (1979). The Wealth of India. Raw materials. Vol. 10. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi . P . 581.
17. العتايي، شلال مراد حسين. 2001. تأثير المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات سم الفراخ *Withania somnifera* في نمو الخلايا السرطانية في الزجاج وفي بعض المعايير الفسلجية في الفئران . اطروحة دكتوراه / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد.
18. الحمدان، علياء عبداللطيف عبدالجبار. (2004). دراسة بعض التأثيرات المناعية والخلوية الناجمة عن استخدام عقار الهيدروكورتيزون Hydrocortisone وبذور الحلبة Fenugreek seed في الفئران البيض Albino mice . رسالة ماجستير . كلية العلوم للنباتات - جامعة بغداد.
19. Singh, N.; Singh , SP. & Nath , R. (1986) . Prevention of Urethan – induced lung adenomas by *Withania somnifera* (L.) Dunal in albino mice. Ind J. crude Druge Res .24:90-100.

Comparative histological study on the effect of alcoholic extract of *Withania somnifera* and hydrocortisone in albino mice

Shilan K. Jabbar¹, Ali H. Al-Musawi², Amna N. Jasem²

¹ College of Science , Kirkuk University , Kirkuk , Iraq

² College of Science , Women–University of Baghdad, Baghdad , Iraq

Abstract

The result s of chemical study showed that the alcoholic extract of *withania somnifera* have most of active component as: alkaloids, flavones, saponins, tannins, glycosides, terpins and steroids. the animals were divided to three groups, the first group were orally adminesterd 0.1ml of 100mg/kg alcoholic extract of withania, the second group were orally adminesterd 0.033 ml/ mice of hydrocortisone , while the third group considered as control group . the administration continued for five days.

Results of histological changes showed hyper plasia of white & Red pulp in spleen of mice that treated with alcoholic extract of withania with megakaryocytes filtration as compared with control group. In liver of the treated mice with extract simple filtration of polymorphonuclear cells (PMN) and some kupffer cells were observed.

The result showed significant increasing in the liver & spleen weight and the most histological changes observed are necrosis of liver & spleen with congestion in blood vescles in micees treated with hydrocortisone.