دراسات فسيولوجية ونسيجية على تأثير مستخلص نبات المرسين على الغدة الدرقية في الجرذان

نورا إبراهيم الزاعل[1] عبد السلام موسى بوالحاج[1] سعد محمد سعد الغرباوي[2]

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v21i1.770

الملخـــــص

استهدفت هذه الدراسة اختبار تأثير المستخلص الإيثانولي المائي لأوراق نبات المرسين على الغدة الدرقية وهرموناتها في الجرذان البيضاء ، حيث استخدمت جرعة بتركيز 2 جرام/كجم وأعطيت للجرذان عن طريق الفم . وشملت هذه الدراسة عدد 43 جرذ قسمت إلى ثلاث مجموعـــات ، المجموعـــة الأولى تم ذبحها بعد 7 أيام والمجموعة الثانية تم ذبحها بعد 14 يوم من بداية المعاملة ، أما المجموعة الثالثة فقد قســـمت إلى 5 مجاميع صغيرة تم ذبحها بعد 2 و 4 و 8 و 12 ساعة من بداية المعاملة ، واشتملت كل مجموعة علـــى بعض الجرذان كمجموعة ضابطة .

بين الفحص المورفولوجي في هذه الدراسة ظهور بعض الأعراض المرضية على الجرذان المعاملـــة بالمستخلص تمثلت في حدوث نزف في الفم والأنف وعند الأطراف ، كما لوحظ على هـــذه الحيوانـــات الهزال والتعب وفقدان الشهية للأكل بعد حوالي 72 ساعة من بداية المعاملة ، إضافة إلى حدوث انخفـــاض معنوي في وزن الجرذان . وقد أظهرت نتائج الاختبارات الهرمونية للمصل حدوث ارتفـــاع معنـــوي في مستوى هرمونات الغدة الدرقية والهرمون المحفز لإفرازها في الجرذان المعاملة بالمســـتخلص لمـــدة أســـبوع وأسبوعين .

وعلى مستوى الفحص النسيجي ازدادت الجريبات الدرقية زيادة ملحوظة في الحجم ، وخاصة الجريبات المتواجدة في أطراف الغدة . وامتلأت العديد من الجريبات بتجمعات من المـــادة الغرويـــة غـــير المتجانسة التي ازدادت الفجوات عند أطرافها ، كما ظهرت بعض الخلايا الإلتهابية داخل المادة الغرويـــة لبعض الجريبات . وأصبحت الجريبات غير منتظمة الحدود ، وظهرت الخلايا الجريبية بصـــورة منضـــغطة وذات أنوية مسطحة ، إضافة إلى وجود بعض الجريبات غير محددة المعالم .

[1] قسم علم الحيوان ، كلية العلوم ، جامعة عمر المختار ، ص.ب. 919 ، البيضاء – ليبيا .

[2] قسم الخلية والأنسجة ، كلية الطب البيطري ، جامعة القاهرة .

©. المؤلف (المؤلفون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي(CC BY-NC 4.0)

المقدمـــــة

إن اســـتخدام النباتـــات الصـــحراوية والأعشاب كمصدر للتداوي من الأمـــور الـــتي صاحبت الإنسان منذ نشأته الأولى وتطورت مـــع مراحل حياته المختلفة مما دفع الكثير من البـــاحثين إلى التنقيب عن أثر هذه المواد على مختلف أنسجة ووظائف الجسم للوقوف على الاستعمال الصحيح وتحديد الجرعات المناسبة وتجنب الأثر الضار لهـــذه المواد واكتشاف مدى فائدتها أو سميتها وضـــررها خاصة في ظل الثورة العلمية والاتجاهـــات الطبيـــة الحديثة .

واستمراراً لهذا النهج تم اختيار نبـــات المرسين المتواجد طبيعياً في منطقة الجبل الأخضـــر لهذه الدراسة ، حيث ينتمي نبات المرسين المعروف علمياً باسم *Myrtus communis* إلى العائلة الآسية Myrtaceae ، ولهذا النبات عدة أسمـــاء شـــعبية فيعرف عند الفراعنة باسم ريحان القبور وفي الشام يسمى البستاني وفي اليمن يسمى هدس وفي بعض الدول يسمى شجرة السكر . يحتوي النبات علـــى مواد ألدهيديـــة Aldehids وفينوليـــة Phenols وراتنجية Ratenges وزيوت طيارة أهمها جيرانيول Geraniol ومـــايرتول Myrtol وأليوكـــالبيتول Aliocalpitol وألفـــــــابينين Alpha-pinene والليمونين Limonene (القاضي ، 1954) .

وبما أن مستخلص نبات المرسين شـــائع الاستخدام كعلاج لمرض الســـكر ، ونظـــراً لأن مرض السكر يعتبر من أكثـــر الأمـــراض المزمنـــة انتشاراً ويستوجب استخدام العلاج بشكل يومي ولفترات طويلة لذا كان من اللازم معرفـــة تـــأثير المستخلص على المدى الطويل ، ومن هنا تم اقتراح مشروع هذا البحث للتعـــرف علـــى الـــتغيرات الفسيولوجية والنسيجية الناجمة عن استخدام نبات المرسين وإضافة المزيد مـــن المعلومـــات في هـــذا الخصوص وخاصة أن المراجع المتاحة والدراســـات السابقة تعتبر قليلة وغير كافية .

أهداف البحث

1- دراسة التأثيرات الفســـيولوجية والنســـيجية المرضية المحتملة على الغدة الدرقية .
2- ملاحظة التأثيرات المحتملة للمستخلص على معدلات إفراز هرمونات الغـــدة الدرقيـــة والهرمون المحفز لإفرازها .
3- معرفة مدى ارتباط الأثر الضار للمستخلص النباتي بطول الفترة الزمنية للمعاملة .

المواد وطرق البحث

أولاً – حيوانات التجربة

Experimental animals

استخدمت في هذه الدراســـة الجـــرذان البيضاء White albino rats ، حيث تم إحضـــار عدد 25 أنثى كأمهات و 15 ذكر كآبـــاء مـــن جمهورية مصر العربية لم يسبق لها أن تعرضـــت أو تعاملت بأي مواد كيميائية ، ووضعت الذكور مع الإنـــاث في أقفـــاص بلاســـتيكية North Kent

Plastic Cages Itd,U.K ذات أبعاد (49 × 30 × 25سم) ونقلت إلى المعمل الخاص بتربية الحيوانات بقسم الأحياء بكلية العلوم جامعة عمر المختار حيث تراوحت درجة حرارة المعمل بين 21-25 درجة مئوية وتراوحت فترات الإضاءة الطبيعية بين 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام ، وتركت لمدة 5 أشهر قبل بدء الدراسة وذلك لغرض التأقلم على الظروف البيئية الجديدة ولزيادة فرصة التكاثر حتى يتاح استخدام أكبر عدد منها ، وخلال هذه الفترة تم تغذيتها بعليقة خاصة وتم توفير الغذاء والماء لها بصورة حرة .

ثانياً – النبات المستخدم

تم استخدام أوراق نبات المرسين حيث جمع النبات من منطقة حبون بمدينة البيضاء خلال شهر أبريل إذ يتميز النبات في هذه الفترة بنمو خضري جيد ومناسب لعملية القطف ، وقد تم عزل الأوراق الغضة الخضراء وتركت حتى الجفاف بعيداً عن أشعة الشمس ومن ثم تمت عملية الاستخلاص .

ثالثاً – تحضير المستخلص النباتي

Preparation of plant extract

تم تحضير مستخلص أوراق نبات المرسين حسب طريقة Sato et al. (1990) مع بعض التحوير وهو استخدام الإيثانول بدلاً من الميثانول وذلك كما يلي :

1- تم أخذ وزن محدد من الأوراق وغسلت بالماء الجاري أولاً ومن ثم بالماء المقطر ثم تركت قليلاً لتصفية الماء منها .
2- تم خلط 1 جم من الأوراق مع 3 مل من محلول الاستخلاص (80 كحول إيثيلي : 20 ماء مقطر ، V\V) بواسطة خلاط كهربائي Blender لمدة نصف ساعة في درجة حرارة الغرفة .
3- تم ترشيح المحلول الناتج بواسطة صوف زجاجي للحصول على الراشح المائي .
4- تم توزيع الراشح على أنابيب اختبار وعرضت للطرد المركزي بسرعة 3500 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة .
5- تم جمع السائل العلوي وسكبه في أطباق زجاجية ثم وضع في الحضان عند 55 درجة مئوية لمدة 48 ساعة حتى جف الراشح .
6- تم تجميع المستخلص الجاف من الراشح وسحقه حتى أصبح ناعم الملمس وتم حفظه في أنابيب مضغوطة محكمة الإغلاق لحين الاستخدام .

رابعاً – تحديد الجرعة المستخدمة

تم في هذه الدراسة استخدام الجرعة التي حددت سابقاً على أنها الجرعة المثالية المستخدمة لخفض مستوى السكر في الدم عند المرضى المصابين بداء السكري وهي 2 جرام من المستخلص الإيثانولي المائي لكل كيلوجرام من وزن

الجسم (El-Fellah et. al., 1984) ، حيث تم اختبار تأثير هذه الجرعة على الجرذان من الناحية الفسيولوجية والنسيجية .

خامساً – تجريع الحيوانات

أدخلت الجرذان التجربة بعمر يتراوح ما بين 14–17 أسبوع وبوزن يتراوح ما بين 200–250 جرام ، وشملت هذه التجربة عدد 43 جرذ ، قسمت إلى ثلاث مجاميع وأعطيت لها جرعة بتركيز 2 جم/كجم عن طريق الفم باستخدام أنبوب المعدة Stomach tube حسب المدة والكيفية المحددة لكل مجموعة ، وقد تم قياس وزن الجرذان قبل وبعد عملية التجريع مع ملاحظة الحيوانات طوال فترة التجريع وتدوين أي أعراض سريرية قد تظهر عليها .

– المجموعة الأولى

تم استخدام 14 جرذ ، قسمت إلى مجموعة ضابطة Control (7 جرذان) ومجموعة معاملة (7 جرذان) ، وقد تم تجريعها بجرعات يومية بتركيز 2 جم/كجم وتم ذبحها بعد 7 أيام من بداية المعاملة وذلك لدراسة تأثير الجرعة على نسيج الغدة الدرقية .

– المجموعة الثانية

تم استخدام 14 جرذ ، قسمت إلى مجموعة ضابطة Control (7 جرذان) ومجموعة معاملة (7 جرذان) ، وقد تم تجريعها بجرعات يومية بتركيز 2 جم/كجم وتم ذبحها بعد 14 يوم من بداية المعاملة .

– المجموعة الثالثة

تم استخدام 15 جرذ ، قسمت إلى مجموعة ضابطة Control (3 جرذان) وأربعة مجاميع معاملة (3 جرذان/مجموعة) ، وقد تم تجريعها بجرعة واحدة مفردة بتركيز 2 جم/كجم وذبحت الجرذان بعد 2 و 4 و 8 و 12 ساعة من بداية المعاملة وذلك لغرض دراسة تأثير الجرعة على معدل إفراز هرمونات الغدة الدرقية والهرمون المحفز لإفرازها .

سادساً – الفحص الظاهري

Morphological examination

بعد تحديد وزن الجرذان في نهاية المعاملة وملاحظة ما طرأ عليها من تغيرات ظاهرية تم ذبحها وجمع الدم في أنابيب خاصة ثم وضعت على ورقة ترشيح وتم تشريحها بفتح التجويف البطني والصدري والرقبة بطنياً بمحاذاة خط المنتصف واستخراج الغدة الدرقية .

سابعاً – فحص الدم

– هرمونات الغدة الدرقية والهرمون المحفز لإفرازها

تم أخذ 2 مل من الدم في أنبوبة لا تحتوي على مضاد للتخثر وترك حتى التجلط ثم عرض للطرد المركزي باستخدام جهاز الطرد المركزي (Scientific-1020-Centurtion) بسرعة 2500 د/ق لمدة 15 دقيقة للحصول على المصل ثم

أخذت العينات لمعمل التحاليل بمستشفى الثورة حيث تم قياس معدل الهرمونات المراد معرفة تركيزها وهي :

1- الهرمون المحفز للغدة الدرقية

Thyroid stimulating hormone (TSH)

تم قياس هذا الهرمون بواسطة اختبار ELISA الحساس Ultrasensitive TSH ELISA المجهز من قبل شركة DRG الألمانية . هذا الاختبار يستعمل جسم مضاد وحيد النسيلة Mouse monoclonal anti-TSH antibody فريد موجه ضد محدد ضدي Antigenic determinant مميز على جزئ الـ TSH المتكامل . هذا الجسم المضاد مثبت في حفر في طبق معايرة دقيقة Microtiter . توضع عينة الاختبار في الحفر ثم يوضع جسم مضاد ثاني ضد الـ TSH (Goat anti-TSH antibody) مرتبط بإنزيم الـ Horseradish peroxidase . تترك العينة للتفاعل مع الجسمين المضادين في نفس الوقت حتى يصبح الـ TSH بين الجسمين المضادين . بعد 20 دقيقة من التحضين عند درجة حرارة الغرفة تغسل الحفر بالماء المقطر لإزالة الأجسام المضادة المعلمة بالإنزيم غير المرتبطة . بعد ذلك يتم وضع محلول الـ TMB وتحضن العينة لمدة 20 دقيقة حتى يتطور اللون الأزرق . يتم إيقاف تطور اللون بإضافة 3N HCl . إضافة الحامض تؤدي إلى تغير اللون إلى الأصفر. وتركيز هرمون الـ TSH يتناسب طردياً مع شدة اللون في عينة الاختبار . تقاس الامتصاصية بجهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي قدره 450 نانوميتر ، وتؤخذ القراءة بالميكرو وحدة لكل مل من الدم .

2- هرمون ثلاثي يود الثيرونين

Tri iodothyronin (T3)

تم قياس تركيز هذا الهرمون في مصل الدم بواسطة اختبار ELISA المجهز من قبل شركة DRG الألمانية . في هذا الاختبار توجد كمية معينة من الجسم المضاد مرتبطة بالحفر في طبق المعايرة الدقيقة Microtiter . توضع في الحفر كمية مقاسة من مصل العينة المجهولة وكمية ثابتة من الـT3 المرتبط به الإنزيم Horseradish peroxidase . خلال فترة التحضين يتنافس كلاً من الـT3 المراد معرفة تركيزه والـ T3 المعلم بالإنزيم على مواقع الارتباط المحددة على الجسم المضاد للـ T3 . بعد 60 دقيقة من الحضن عند درجة حرارة الغرفة تم غسل الحفر 5 مرات بالماء المقطر لإزالة الـT3 المعلم . يضاف بعد ذلك محلول الـ TMB ويحضن الطبق لمدة 20 دقيقة حتى يظهر اللون الأزرق . يتم إيقاف تطور اللون بإضافة 1N HCl ، ثم تقاس الامتصاصية بجهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي قدره 450 نانوميتر . شدة اللون المتكون

تتناسب طردياً مع كمية الإنزيم الموجود وعكسياً مع كمية الـ T3 غير المعلم في العينة . يتم تحديد تركيز الـ T3 في العينة المجهولة بالمقارنة مع سلسلة من عينات T3 قياسية ، وتؤخذ القراءة بالنانوجرام لكل مل من الدم .

3- هرمون رباعي يود الثيرونين (الثيروكسين) (Thyroxin) Tetra iodothyronin (T4)

تم قياس تركيز هذا الهرمون في مصل الدم بواسطة اختبار ELISA المجهز من قبل شركة DRG الألمانية وبنفس طريقة قياس هرمون الـ T3 المذكورة سلفاً ، وتؤخذ القراءة بالميكروجرام لكل 100 مل من الدم .

ثامناً – الفحص النسيجي

Histological examination

وفيه تم أخذ قطع صغيرة من الغدة الدرقية ووضعت فوراً في المثبتات النسيجية التالية :

فورمالين 10% Formalin ، محلول بوان Bouin's fluid ، محلول زنكر Zenker's fluid ، محلول سوزا Susa fluid . بعد ذلك تم تمرير العينات في المحاليل الكحولية التصاعدية ثم الترويق والتشفيف بالزايلين Xylene ثم طمرت العينات في شمع البرافين المنصهر Paraffin wax درجة انصهاره 58°م وصبت بعد ذلك في قوالب الشمع وتركت حتى تصلبت ومن ثم قطعت بواسطة جهاز التقطيع الشمعي (Microtome taca-RM 2125) إلى مقاطع Paraffin sections بسمك 5 ميكرون وثبتت على شرائح زجاجية ، بعد ذلك صبغت الشرائح بصبغة الهيماتوكسيلين والإيوسين Harris's haematoxylin and eosin (H&E) لغرض الدراسة العامة . وقد تم حفظ وتمرير العينات وصبغها استناداً إلى Crossmon (1937) و Bancroft and Gamble (2002) . وبعد انتهاء عملية الصبغ تمت تغطية الشرائح بغطاء زجاجي Cover slide بعد وضع قطرات من مادة الكندا بلسم Canada balsam ثم تم فحص وتصوير الشرائح النسيجية المصبوغة بواسطة المجهر الضوئي المصنع من قبل شركة Olympus والمزود بآلة تصوير نوع (CAMEDIA C- Olympus 7070) .

تاسعاً – التحليل الإحصائي

Statistical analysis

أدخلت البيانات لجهاز الحاسوب حيث تم تحليلها إحصائياً باستخدام برنامج Minitab 13 وذلك عن طريق تحليل التباين باتجاه واحد One way Analysis of (ANOVA) Variance (Ott, 1984) .

النتائج والمناقشة

أولاً – الفحص الظاهري

Morphological examination

بعد معاملة الجرذان بمستخلص أوراق نبات المرسين بجرعة 2 جم/كجم بشكل يومي لمدة أسبوع وأسبوعين لوحظ على هذه الجرذان بعد حوالي 72 ساعة أعراضاً مرضية ظاهرية تمثلت في

حدوث نزف في الفم والأنف وعند الأطراف ، إضافة إلى إصابة الحيوانات بالهزال والتعب وفقدان الشهية للأكل .

لم يظهر الفحص العياني Macroscopical examination لأعضاء المجموعتين المعاملتين بمستخلص نبات المرسين أي تغيرات مرضية أو اختلافات ظاهرية على الغدة الدرقية مقارنة بالمجموعة الضابطة .

1- ملاحظة التغير في وزن الجسم

يبين جدول 1 تأثير مستخلص نبات المرسين على وزن الجسم . فقد تبين أن معاملة الجرذان بالمستخلص أدت إلى تغيير في أوزان الجرذان المعاملة لمدة أسبوع وأسبوعين ، حيث لوحظ حدوث انخفاض معنوي في وزن الجرذان بعد التجريع لمدة أسبوع (190.7 ± 12.0) مقارنة بالمجموعة الضابطة (210.3 ± 12.2) ، كما أدى التجريع لمدة أسبوعين إلى انخفاض معنوي كبير في وزن الجرذان (170.1 ± 10.9) مقارنة بالمجموعة الضابطة (206.3 ± 6.6) .

جدول 1 تأثير مستخلص نبات المرسين على وزن الجسم في الجرذان مقاساً بالجرام

العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط ± الانحراف القياسي $\bar{X}$ ± S.D	الفروق المعنوية عند 0.05
المجموعة الضابطة	7	12.20 ± 210.28	a
معاملة لمدة أسبوع	7	12.00 ± 190.71	b
المجموعة الضابطة	7	6.63 ± 206.28	a
معاملة لمدة أسبوعين	7	10.85 ± 170.14	c

• الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P < 0.05$

• الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية

ثانياً – فحص الدم

– هرمونات الغدة الدرقية والهرمون المحفز لإفرازها

1- التغير في مستوى الهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH)

جدول 2 يبين تأثير مستخلص نبات المرسين على مستوى هرمون الـTSH مقاساً بالميكرو وحدة / مل من الدم . فقد أوضحت النتائج أن هناك زيادة في معدل هرمون الـTSH في الجرذان المقاس فيها هذا الهرمون بعد المعاملة بـ

2 و 4 و 8 و 12 ساعة مقارنة بجرذان المجموعة الضابطة (0.4 ± 0.1) ، حيث لوحظ أن الجرذان المقاس فيها الهرمون بعد المعاملة بساعتين حدث فيها زيادة طفيفة غير معنوية في مستوى الهرمون (1.7 ± 1.4) مقارنة بالمجموعة الضابطة ، أما الجرذان المقاس فيها الهرمون بعد 4 ساعات من المعاملة فقد حدث فيها ارتفاع معنوي (2.9 ± 0.2) مقارنة بالضابطة ، وبعد 8 ساعات من المعاملة ارتفع معدل الهرمون إلى (3.2±0.2) ، وارتفعت هذه القيمة في الجرذان المقاس فيها الهرمون بعد 12 ساعة ارتفاعاً معنوياً كبيراً (3.9±0.2) مقارنة بالمجموعة الضابطة .

2- التغير في مستوى هرمون ثلاثي يود الثيرونين (T3)

جدول 3 يبين تأثير مستخلص نبات المرسين على مستوى هرمون الـ T3 مقاساً بالنانوجرام لكل مل من الدم . دلت النتائج على عدم وجود زيادة معنوية في مستوى هرمون الـT3 في الجرذان بعد ساعتين من المعاملة (1.5±0.4) مقارنة بالمجموعة الضابطة (1.3±0.1) ، أما بالنسبة للجرذان المقاس فيها معدل الهرمون بعد 4 و 8 و 12 ساعة فقد لوحظ حدوث ارتفاع معنوي بزيادة عدد الساعات ، حيث كان على الترتيب (2.4 ± 0.4) و (3.1 ± 0.2) و (0.3 ± 3.9) .

3- التغير في مستوى هرمون رباعي يود الثيرونين (T4)

جدول 4 يبين تأثير مستخلص نبات المرسين على مستوى هرمون الـ T4 مقاساً بالميكروجرام لكل 100مل من الدم . واتضح أن معدل الهرمون قد ارتفع معنوياً في الجرذان المعاملة بالمستخلص والمقاس فيها الهرمون بعد ساعتين من المعاملة (8.5 ± 1.6) مقارنة بمجموعة الجرذان الضابطة (4.4 ± 0.6) ، كذلك لوحظ أن معدل الهرمون ارتفع بعد 4 ساعات من المعاملة ارتفاعاً معنوياً (13.3 ± 1.2) مقارنة بالمجموعة الضابطة والمجموعة المقاس فيها الهرمون بعد ساعتين ، وبالنسبة للجرذان المقاس فيها الهرمون بعد 8 ساعات من المعاملة لوحظ فيها أيضاً ارتفاعاً معنوياً عالياً (14.3 ± 0.9) مقارنة بالضابطة ، كما ارتفع هذا المعدل بشكل معنوي كبير جداً في الجرذان المقاس فيها الهرمون بعد 12 ساعة من المعاملة (0.6 ± 15.3) مقارنة بجرذان المجموعة الضابطة .

جدول 2 تأثير مستخلص نبات المرسين على مستوى تركيز الهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH) في مصل الجرذان مقاساً بالميكرو وحدة / مل من الدم

العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط ± الانحراف القياسي $\bar{X}$ ± S.D	الفروق المعنوية عند 0.05
المجموعة الضابطة	3	0.4167 ± 0.1361	a
معاملة لمدة ساعتين	3	1.7267 ± 1.4133	ab
معاملة لمدة 4 ساعات	3	2.8667 ± 0.2401	b
معاملة لمدة 8 ساعات	3	3.2333 ± 0.2454	bc
معاملة لمدة 12 ساعة	3	3.9100 ± 0.2234	c

جدول 3 تأثير مستخلص نبات المرسين على مستوى تركيز هرمون ثلاثي يود الثيرونين (T3) في مصل الجـــرذان مقاســـاً بالنانوجرام / مل من الدم

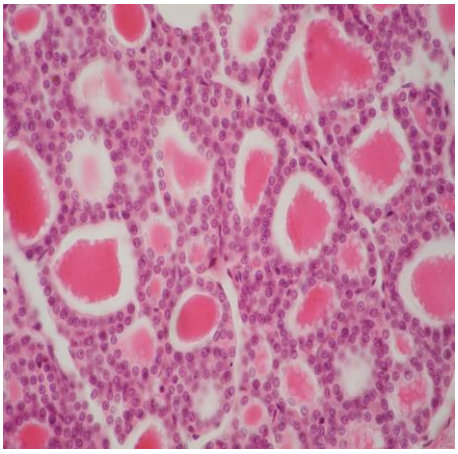
العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط ± الانحراف القياسي $\bar{X}$ ± S.D	الفروق المعنوية عند 0.05
المجموعة الضابطة	3	1.3467 ± 0.1484	a
معاملة لمدة ساعتين	3	1.5133 ± 0.3787	a
معاملة لمدة 4 ساعات	3	2.3733 ± 0.4114	b
معاملة لمدة 8 ساعات	3	3.1233 ± 0.1823	c
معاملة لمدة 12 ساعة	3	3.9300 ± 0.2623	d

جدول 4 تأثير مستخلص نبات المرسين على مستوى تركيز هرمون رباعي يود الثيرونين (T4) في مصل الجرذان مقاســـاً بالميكروجرام / 100 مل من الدم

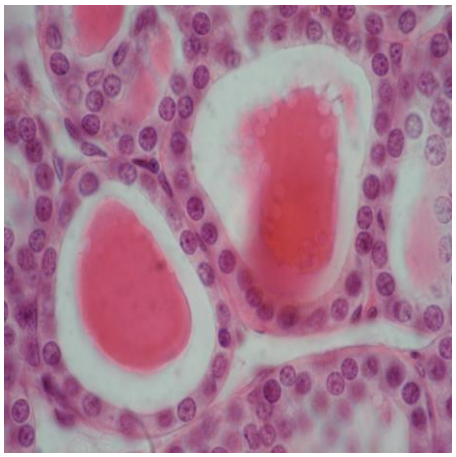
العينة	عدد المعاملات (N)	المتوسط ± الانحراف القياسي $\bar{X}$ ± S.D	الفروق المعنوية عند 0.05
المجموعة الضابطة	3	04.400 ± 0.592	a
معاملة لمدة ساعتين	3	08.460 ± 1.590	b
معاملة لمدة 4 ساعات	3	13.333 ± 1.234	c
معاملة لمدة 8 ساعات	3	14.390 ± 0.937	cd
معاملة لمدة 12 ساعة	3	15.280 ± 0.566	d

ثالثاً – الفحص النسيجي للغدة الدرقية

ظهرت الغدة الدرقية في مجموعة الجرذان الضابطة مكونة من تجمعات من جريبات درقية Thyroid follicles مستديرة إلى بيضاوية الشكل ذات أحجام مختلفة . وكانت الجريبات مبطنة بصف واحد من خلايا جريبية Follicular cells مكعبة ذات أنوية كروية ، واحتوى تجويف الجريبات على مادة غروية (غروان) متجانسة Homogeneous colloid ، كما احتوت أطراف المادة الغروية على بعض الفجوات الصغيرة (شكل 1 و 2) . وفي المجموعة المعاملة بمستخلص نبات المرسين لمدة أسبوعين ظهرت الجريبات الدرقية متضخمة وازدادت زيادة ملحوظة في الحجم ، وخاصة الجريبات المتواجدة في أطراف الغدة الدرقية . وامتلأت العديد من الجريبات بتجمعات من المادة الغروية غير المتجانسة التي ازدادت الفجوات عند أطرافها ، كما ظهرت بعض الخلايا الإلتهابية داخل المادة الغروية لبعض الجريبات . وأصبحت الجريبات غير منتظمة الحدود ، وظهرت الخلايا الجريبية بصورة منضغطة وذات أنوية مسطحة ، إضافة إلى وجود بعض الجريبات غير محددة المعالم (شكل 3 و 4) .

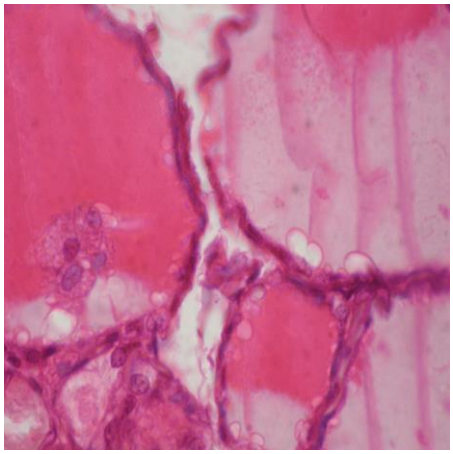


شكل 1 قطاع في الغدة الدرقية لجرذ بالمجموعة الضابطة يظهر احتواء الجريبات الدرقية على مادة غروية متجانسة احتوت أطرافه على بعض الفجوات الصغيرة . صبغة (H&E) 400 X



شكل 2 قطاع مكبر في الغدة الدرقية لجرذ بالمجموعة الضابطة يظهر الجريبات الدرقية المبطنة بصف واحد من خلايا جريبية مكعبة ذات أنوية كروية . صبغة (H&E) 1000 X

شكل 3 قطاع في الغدة الدرقية لجرذ معامل لمدة أسبوعين يوضح تضخم الجريبات الدرقية وامتلائها بمواد غروية التي ازدادت الفجوات عند أطرافها. لاحظ وجود بعض الجريبات غير محددة المعالم . صبغة (H&E) 400X



شكل 4 قطاع مكبر في الغدة الدرقية لجرذ معامل لمدة أسبوعين يوضح عدم انتظام حدود الجريبات وامتلائها بمواد غروية غير متجانسة، واحتواء بعض الجريبات على خلايا التهابية (Arrows) داخل المواد الغروية . صبغة 1000X (H&E)

نظراً لعدم احتواء المراجع المتاحة على دراسات خاصة بتأثير مستخلص نبات المرسين على الهرمونات وكذلك أنسجة وأعضاء الجسم ، فقد تم الرجوع إلى ما أجراه عدد من الباحثين السابقين على نباتات أخرى حاوية على بعض المواد الفعالة المشابهة لتلك المتواجدة طبيعياً في نبات المرسين والتي قد تعطي بدورها التأثيرات الناتجة ذاتها عند استخدام هذا النبات وقد تختلف عنها .

أظهرت الدراسة المورفولوجية حدوث نزف للجرذان في عدة مناطق كالفم والأنف وعند الأطراف . والتي تتوافق مع ما ذكره علي (2007) عن تأثير مستخلص نبات الحلبة على الجرذان والذي وجد أن المعاملة بجرعة 1 جم/كجم من مستخلص بذور الحلبة قد أدت إلى حدوث نزف في الفم والأنف وتحت العين ، ويرجح أن يكون النزف الحاصل في هذه المناطق ناتج عن حدوث تحلل دموي وتكسر في كريات الدم الحمراء أو الإجهاد التأكسدي الناتج عن تركيز الجرعة المعطاة (Subon et al., 2004) أو نتيجة لتثبيط قدرة الصفائح الدموية على التجمع مع بعضها البعض وبالتالي تزداد عملية النزف (Hannan et al., 2003) . كما تجدر الإشارة إلى

أن الفلافونات المتواجدة في نبات المرسين تؤدي إلى ارتخاء الأوعية الدموية عن طريق منع ارتفاع تركيز الكالسيوم داخل الخلايا ، وبالتالي زيادة دوران الدم الذي بدوره يساعد على عملية الترف . ومن المعروف أن ارتفاع الكالسيوم يؤدي إلى انقباض العضلات الملساء في الأوعية الدموية (Bastianetto, 2000) .

سجلت الدراسة الحالية إصابة الحيوانات المعاملة بالهزال والتعب وفقدان الشهية للأكل . تماثل هذه النتائج ما ذكره العمامي (1999) عن تأثير مشروب نبات البن على الفئران حيث حدث نتيجة المعاملة إجهاد للفئران وفقدان الشهية للأكل وزيادة معدل استهلاك الطاقة ، وربما يكون السبب في ذلك هو قلة كمية الأكسجين الواصل للأنسجة وذلك نتيجة لنقص مستوى الحديد الناتج عن فقدان الشهية (الكبيسي ، 2002) ، والمعروف أن الحديد عنصر أساسي في تكوين الهيموجلوبين الناقل للأكسجين وبالتالي فإن نقص الحديد ينتج عنه نقص الأكسجين (شيفيل ، 1982) . وعلى النقيض من ذلك فقد أدى إعطاء عليقة غذائية مخلوطة مع مسحوق بذور الحلبة بمقدار 10-100 ملجم/300 جم من وزن الجسم يومياً إلى رفع مستوى الأيض الغذائي وزيادة رغبة الجرذان على الأكل (Petit et al., 1993) .

أشارت الدراسة الحالية إلى حدوث انخفاض معنوي في وزن الجرذان بصفة عامة بعد المعاملة بالمستخلص لمدة أسبوع وانخفض أكثر بعد أسبوعين من المعاملة . وقد يعزى ذلك إلى أن فقدان الشهية للأكل يسبب نقص في كمية المواد الغذائية التي يمتصها الجسم والنتيجة هي انخفاض الوزن . في حين أعزى Bracco et al. (1995) ذلك إلى زيادة معدل استهلاك الطاقة الذي يؤدي بدوره إلى خفض مخزون الدهن عن طريق زيادة تركيز الأحماض الدهنية الحرة وزيادة أكسدة الدهن مما ينتج عنه انخفاض في وزن الجسم . كما أن التانينات المتواجدة طبيعياً في نبات المرسين تثبط عملية تخليق الدهون التي يحفزها هرمون الإنسولين وبالتالي نقص الوزن والطاقة (Ong et al., 1995) . وقد توصل العمامي (1999) أيضاً إلى أن مشروب نبات البن الحاوي على مادة التانين يؤدي إلى حدوث انخفاض في وزن الجرذان . وعلاوة على ذلك فقد ثبت أن التانين يكون مركبات معقدة مع البروتينات (Gartner and Hurwood, 1976) ، ويسبب نقص في هضم البروتينات (Mehansho et al., 1983) ، ومسؤول عن تثبيط الإنزيمات الهاضمة في القناة الهضمية (Griffiths, 1982) . كما أن زيادة مستوى التانين ينتج عنه توسف الخلايا الظهارية Desquamation وتآكل في الخميلات وقصر طول الخملات في الاثني عشر ، مما قد يؤدي إلى منع امتصاص المواد الغذائية (Mbatha et al., 2005) . وبناءاً على ما تقدم وبما أن التانين من

المواد الفعالة المتواجدة طبيعياً في مستخلص نبات المرسين ، فربما تكون هذه المادة هي المسئولة عن حدوث انخفاض وزن الجرذان في دراستنا الحالية وخاصة الجرذان التي تعاطت المستخلص لمدة أسبوعين .

أوضحت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي في مستوى الهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH) وهرمون ثلاثي يود الثيرونين (T3) وهرمون رباعي يود الثيرونين (T4) المعروف بالثيروكسين في الجرذان المعاملة بالمستخلص ، حيث لوحظ أن تركيز هذه الهرمونات يزداد كلما زادت الفترة بين وقت التجريع وقياس مستوى الهرمون فقد كان التركيز أعلاه عند قياس مستويات هذه الهرمونات بعد 12 ساعة من المعاملة ، ويحتمل أن يكون سبب الزيادة هو حاجة الجسم لهذه الهرمونات لتحفيز خلايا الجسم على تكوين البروتين لاستخدامه في تعويض نقص الجلوكوز الناتج عن استخدام مستخلص نبات المرسين (منسي والشريدة ، 2001) و (الكبيسي ، 2002) ، كما أن زيادة معدل استهلاك الأكسجين ونقص الطاقة في الجسم تحفز عملية إفراز الهرمون المحفز للغدة الدرقية (TSH) والذي يؤدي بدوره إلى زيادة إفراز هرمونات الغدة الدرقية (زايد وتوني، 1998) ، وهذه النتائج تشير إلى أن للمستخلص تأثير مباشر على الغدة النخامية و/أو الغدة الدرقية وقد تأكد ذلك من خلال الفحص النسيجى للغدة الدرقية والذى أوضح أن هناك زيادة فى حجم الجريبات الدرقية وامتلائها بالمادة الغروية . لكن هذه النتائج مخالفة لما تحصل عليه (Deng and Tao, 1998) حيث تبين في دراستهما على مستخلص نبات الشاي الأخضر أن المستخلص يؤدي إلى جعل وظيفة الغدة الدرقية طبيعية عن طريق التقليل من فرط الإفراز .

أدت المعاملة بالمستخلص إلى ازدياد حجم الجريبات الدرقية زيادة ملحوظة ، وخاصة الجريبات المتواجدة عند أطراف الغدة ، وظهرت العديد من الجريبات غير منتظمة الحدود وممتلئة بتجمعات من المادة الغروية غير المتجانسة التي ازدادت الفجوات عند أطرافها ، كما ظهرت بعض الخلايا الالتهابية داخل المادة الغروية لبعض الجريبات . وأصبحت الخلايا الجريبية منضغطة وذات أنوية مسطحة . وتحدث هذه التغيرات في حالة زيادة إفراز الغدة الدرقية Hyperthyroidism ، فضلاً عن أن ارتشاح الخلايا الإلتهابية علامة من علامات التهاب الغدة الدرقية (Carlton and McGavin, Thyroiditis 1995) . هذا وقد أكد Mehansho et al. (1983)و(1985) Mehansho et al. أن زيادة التانين (المتواجد طبيعياً في مستخلص نبات المرسين) في غذاء الجرذان يسبب زيادة إفراز الغدة الدرقية . وعلى النقيض من ذلك فقد وجد Sharma (2006) أن الشاي الأخضر يحتوي على

عديدة الفينولات Polyphenols (المتواجدة أيضاً في مستخلص نبات المرسين) تضبط وظيفة الغدة الدرقية وتقلل من فرط إفرازها .

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendation

من خلال الدراسة الحالية التي تضمنت اختبار تأثير الجرعة المخفضة لسكر الدم (2 جم/كجم) للمستخلص الإيثانولي المائي لأوراق نبات المرسين على الغدة الدرقية وهرموناتها فقد أمكن التوصل إلى أهم الاستنتاجات والتوصيات التالية :

1- إن الجرعة المحددة لمستخلص نبات المرسين (2 جم/كجم) والمستخدمة لتخفيض مستوى السكر في الدم لها تأثيرات ضارة على المستوى الفسيولوجي والنسيجي .

2- إمكانية استخدام نبات المرسين أو مستخلصاته المنقاة كمواد طبيعية وقائية وعلاجية إذا ما استخدم بجرع محدودة ومدروسة علمياً .

3- ضرورة إجراء المزيد من الدراسات عن نبات المرسين والنباتات الطبية الأخرى من نواحي عديدة ، وتحديد مدى إمكانية استخدامها في الطب البديل ، ويجب أن يكون الاستخدام تحت إشراف طبي وخاصة أن هذه النباتات قد تحدث تداخلات دوائية عند استعمال بعض الأدوية الأخرى وخاصة الأدوية المخفضة لمستوى السكر .

Physiological and histological studies on the effect of Myrtus communis extract on rat's thyroid gland

Noura I. Al-Zail[*] Abdusalam M. Aboalhaj Saad M. S. El-Gharbawy[**]

Abstract

The aim of this study was to test the effect of the ethanolic extract of *Myrtus communis* leaves on the thyroid gland tissue in white rats. The animals were given a dose of 2 g/kg orally. 43 rats were divided into 3 groups. The first group was given the dose daily for 7 days. The second group was treated for 14 days . The third group was given the dose for different hours, and after the end of each treatment period, blood samples were taken and the levels of thyroid hormones (T3, T4) and thyroid stimulating hormone (TSH) were determined . Each group included some animals as a control.

Some of the animals treated with the extract showed bleeding through mouth and nose , were lethargic , tired and lost apetite . Furthermore , the weight of these animals was significantly lower than those in the controls . The animals treated with the extract had a significant increase in the levels of TSH , T3 and T4 .

Thyroid gland of treated rats showed an increase in the size of thyroid follicles especially those found at the periphary of the gland . These follicles became irregular and distended by an accumulation of heterogenous colloid with an increase in the amount of vacuoles at the periphary of this colloid . Moreover , some inflamatory cells appeared inside the colloid of some follicles. However , follicular cells appeared compressed with flattened nuclei . Some follicles with ill-distinct boundaries were also appeared.

[*] Zoology Department / Faculty of science / Omar El-Mukhtar University.

[**] Cytology and Histology Department / Faculty of veterinary medicine / Cairo University.

المراجـــــع

العمامي ، عطية علي أحمد (1999) . تحليل بعض مكونات نوى التمر وتقييمه حيوياً كمشروب ساخن (قنوي) . أطروحة ماجستير . قسم علوم الأغذية . كلية الزراعة . جامعة الفاتح . الجماهيرية الليبية .

القاضي ، عبد الله عبد الحكيم (1954) . استعمالات بعض النباتات في الطب الشعبي الليبي . الجزء الثالث . دار الحكمة للطباعة والنشر والتوزيع . الجماهيرية الليبية . 107-109 .

الكبيسي ، خالد (2002) . الكيمياء الحيوية – العلوم الطبية المساعدة . الطبعة الأولى . دار وائل للنشر والتوزيع . عمان – الأردن .

زايد ، عبد الله عبد الرحمن و توني ، محمد محمد خلف (1998) . علم وظائف الأعضاء – الغدد الصماء والهرمونات . الطبعة الأولى . منشورات جامعة عمر المختار . الجماهيرية الليبية .

شيفيل ، نورمان (1982) . أمراض الخلية . ترجمة : غياث صالح محمود . (1997) . الطبعة الأولى . مطبوعات جامعة الموصل . العراق .

علي ، رابحة عيسى (2007) . تأثير التغذية بالحلبة في بطانة الرحم وبعض المعايير الفسيولوجية لإناث الجرذان . أطروحة ماجستير . قسم علم الحيوان . جامعة عمر المختار . الجماهيرية الليبية .

منسي ، عرسان إرشيد و الشريدة ، محمد شريف (2001) . مقدمة في الكيمياء الحيوية السريرية . الجزء الثاني . دار وائل للطباعة والنشر. عمان – الأردن .

Bancroft, J. D. and Gamble, M. (2002). Theory and Practice of histological techniques. 5th ed. *Churchill Livingston*. Edinburgh. London & New York.

Bastianetto, S. (2000). Biological activities of the components of *Ginkgo biloba*. J. Neurochemistry, 74:2268-2277.

Bracco, D.; Ferrarra, J. M.; Arnaud, M. J.; Jequier, E. and Schutz, Y. (1995). Effects of caffeine on energy metabolism, heart rate and methylxanthine metabolism in lean and obese women. Am. J. Physiol., 269(4part1):E671-E678.

Carlton, W. W. and McGavin, M. D. (1995). Special veterinary pathology. 2nd ed. Philadelphia, New York.

Crossmon, G. (1937). A modification of Mallory connective tissue stain with discussion of the principle involved. Ant. Rec., 69:33-38.

Mehansho, H.; Hagerman, A.; Clements, S.; Butler, L.; Rogler, J. C. and Carlson, D. M. (1983). Modulation of proline-rich protein biosynthesis in rat parotid gland by sorghums with high tannin levels. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 80:3948.

Mehansho, H.; Rogler, J. C.; Butler, L. G. and Carlson, D. M. (1985). An unusual growth inhibiting effect of tannins on hamsters. Fed. Proc., 44:1960.

Ong, K. C.; Khoo, H. E. and Das, N. P. (1995). Tannic acid inhibits insulin-stimulated lipogenesis in rat adipose tissue and insulin receptor function in vitro. Experientia, 51(6):577-584.

Ott, L. (1984). An introduction to statistical methods and Data Analysis 2nd ed. Duxburg Press, Boston, USA .

Petit, P.; Sauvaire, Y.; Ponsin, G.; Manteghetti, M.; Fave, A. and Ribes, G. (1993). Effect of fenugreek seed extract on feeding behaviour in the rat : metabolic-endocrine correlates. Pharmacol. Biochem. Benav., 45(2):369-374.

Sato, T.; Onse, Y.; Nagase, H. and Kito, H. (1990). Mechanism of antimutagenicity of aquatic plant extracts against benzo(a) pyrene in the *Samonella* assay. Mut. Res., 241:283-290.

Sharma, A. (2006). Comprehensive ayurvedic herbs for superior blood sugar stabilization. Phytotherapy Res., 1-10.

Subon, S. M.; Bilto, Y. Y. and Aburjai, T. A. (2004). Protective effect of selected medicinal plant against

Deng, Z. Y. and Tao, B. Y. (1998). Effect of green tea and black tea on blood glucose, triglycerides and antioxidants in aged rats. J. Agricult Food Chem., 46:3875-3878.

El-Fellah, M. S.; Akhter, M. H. and Khan, M. T. (1984). Anti-hyperglycaemic effect of an extract of *Myrtus communis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. J. Ethnopharmacol, 11(3):275-281.

Gartner, R. J. W. and Hurwood, I. S. (1976). The tannin and oxalic acid content of *Acacia aneura* (mulga) and their possible effects on sulphur and calcium availability. Australian Veterinary Journal, 52:194-195.

Griffiths, D. (1982). The phytate content and iron binding capacity of various field bean (*Vicia faba*) preparations and extracts. J. Science and Food in Agriculture, 33:847-851.

Hannan, J. M.; Rokeya, B.; Farugue, O.; Nahar, A.; Mosihuzzaman, M.; Aza-Khan, A. K. and Ali, L. (2003). Effect of soluble dietary fiber fraction of *Trigonella foenum-graecum* on glycemic, insulinemic, lipidemic and platelet aggregation status of type-2 diabetic model rats. J. Ethnopharmacol, 88:73-77.

Mbatha, K. R.; Downs, C. T. and Nsahlai, I. V. (2005). The effects of graded levels of dietary tannin on the epithelial tissue of the gastro-intestinal tract and liver and kidney masses of Boer goats. Med. J., 74(3):3209.

protein degradation, lipid peroxidation and deform ability loss of oxidativly stressed human erythrocytes. Phytother. Res., 18(4): 280-284.