الترقيم الدولي ٨٦٩٠ ـ ١٩٩١ ISSN 1991- 8690

Website :http:// jsci.utq.edu.iq Email: utjsci@utq.edu.iq

# تأثير المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء *Nigella sativa* في بعض المعايير الفسلجية والمناعية والتغييرات النسجية لذكور الفئران المختبرية المصابة بطفيلي *Entamoeba histolytica*

علي مانع حسين فاطمة عزيز مهدي نادية احمد هادي

جامعة ذي قار – كلية التربية للعلوم الصرفة – قسم علوم الحياة

**الخلاصة**

صممت الدراسة الحالية لبحث تأثير المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء *Nigella sativa* في بعض المعايير الفسلجية والمناعية والتغييرات النسجية لذكور الفئران المختبرية المصابة بطفيلي *Entamoeba histolytica* التي قسمت الى اربعة مجاميع جرعت المجموعة الاولى بـ ٠,٥ مل من المحلول الفسيولوجي (مجموعة السيطرة) وجرعت المجموعة الثانية بـ ٠,٥ مل من عالق اميبا النسيج وجرعت المجموعة الثالثة بـ ١ مل من عالق اميبا النسيج فيما جرعت المجموعة الرابعة بـ ١ مل من عالق اميبا النسيج وبعد ذلك عولجت بـ املغم من مستخلص بذور الحبة السوداء لمدة عشرة ايام.

اظهرت النتائج انخفاض غير معنوي في تركيز خضاب الدم Hb في المجموعتين الثانية والثالثة و ارتفاعا معنويا في العدد الكلي لخلايا الدم البيض والخلايا اللمفية والخلايا الحمضة ومعدل البلعمة في المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة ($P\leq0.05$ ) ، كما اشارت نتائج الدراسة الحالية الى انخفاض معنوي في حجم كريات الدم الحمر المنضغطة و الخلايا الوحيدة في المجموعتين الثانية والثالثة ووزن الجسم في المجموعة الثالثة والخلايا العدلة في المجموعة الثانية عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ($P\leq0.05$) وعدم وجود فرقا معنويا في اعداد الخلايا القعدة بين المجموعتين الثانية والثالثة ومجموعة السيطرة ($P\leq0.05$).

أظهرت النتائج ايضا عدم وجود اختلافات معنوية في معايير الدم و البلعمة ووزن الجسم في المجموعة الرابعة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة ($P\leq0.05$ ).

من جانب اخر اوضحت النتائج تغييرات نسجية في خصى وكبد وكلى ذكور الفئران المعاملة بعالق الطفيلي (المجموعتين الثانية والثالثة) تمثلت بالنزف في النبيبات المنوية وتفكك النسيج البيني في الخصية والالتهابات والاحتقان في الاوردة الكبدية وتضخم انوية الخلايا الكبدية في الكبد وتوسع فراغ محفظة بومان واختزال المجموعة الشعرية للكبيبة في الكلية في الحيوانات المعاملة بعالق الطفيلي ، كما بينت النتائج ان معالجة الحيوانات بمستخلص بذور الحبة السوداء سبب انخفاضا في التاثيرات النسجية لاميبا النسيج .

# Effect of aqueous extract of Black Seed ( *Nigella sativa* ) in some Physiological and Immunological parameters and Histological Changes of male mice infected with *Entamoeba histolytica*

Ali M.Husein Fatema A. Mahdi Nadia A. Hadi

Thi-Qar university - College of education for pure sciences- Biology department

## Abstract

This study was designed to investigated effect of aqueous extract of Black seeds (*Nigella sativa*) in some physiological and immunological parameters and histological changes of male mice infected with *Entamoeba histolotica* which divided into four groups, the first group administrated 0.1 ml normal saline orally (control group) , the second group administrated 0.5 ml suspension of *Entamoeba histolotica* orally ,the third group administrated 1 ml suspension of *Entamoeba histolotica* orally and the fourth group administrated 1 ml suspension of *Entamoeba histolotica* and treated after infection with 1 mg extract of black seeds for 10 days.

The results showed non significant decreased in concentration of Hemoglobin in second and third group compare with control group and a significant increased in the total count of W.B.C., Lymphocyte, Acidophile and Phagocytosis in second and third group compare with control group ($p \leq 0.05$).

Results of the current study revealeda significant decreased in P.C.V. and Monocyte, in second and third group and body weight in third group and neutrophil in second group compare with control group and non significant differences in count of Basophile between all groups ($p \leq 0.05$) .

The results showed also non significant differences in blood parameters, Phagocytosis and body weight in fourth group compare with control group ($p \leq 0.05$).

In the other hand the results showed occurs histological changes in tests, liver and kidney in male of mice treated with *Entamoeba histolotica* (second and third group) include: bleeding in Seminiferous tubules and destroyed of interstitial tissue of testis and Inflammation, blood congestion in liver veins and hypertrophy of nuclei of hepatocytes and increased of bowman spaces an reduced of glomerulus.

The results also showed that treated of animal with extract of Black seeds (*Nigella sativa*) (fourth group) cause reduced histological effects of *Atamoeba histolotica*

## ١- المقدمة

تعتبر اميبا النسيج من اهم الطفيليات المرضية اللاهوائية وتنتمي الى جنس الانتاميبا والتسمية من مقطعين نسيج tissue وتحطيم destryin أي محطمة او محللة النسيج وقد عرف التأثير المرضي لها عام ١٨٧٥ واعطيت الاسم اللاتيني عام ١٩٠٣ ( Ryan & Ray 2004) اذ تحصل على غذائها من تخمر الكلوكوز بتحويل Acetyle-CoA الى Ethanol بواسطة النشاط الانزيمي للـ Aldehydedehydrogenase (ALDH) و Alcoholdehydrogenease (ADH) وهي عملية ضرورية لبقاء اميبا النسيج (Aveline *et al.*,2009 ; Espinisa *et al.*,2001).

يتعرض مايقارب ٥٠ مليون شخص سنويا للاصابة بامراض تتعلق بالانتاميبا هيستوليتكا وهناك تقديرات اخرى بان ١٠% من سكان العالم يصابون بهذا الطفيلي سنويا (Wkly,1997) وتحدث الاصابة بدخول البيوض المتكيسة مع الماء او الغذاء الملوث بها وتنتج الطور المتغذي Trophozoit في القناة الهضمية والذي يسبب التاثيرات المرضية لهذا الطفيلي (Ryan & Ray ,2004) وتظهر على المصاب العديد من الاعراض المرضية منها الاسهال Diarrhea وانخفاض الوزن Weight loss والاعياء Fatigue والام في البطن Abdominal pain والدزنتري وخراج الكبد Liver abscess ( Caler & Lorenzi , 2010) وتعالج اميبا النسيج باستخدام Metronidazol وهو عقار كيمياوي على الرغم من بعض التاثيرات السامة له والذي دفع الباحثين الى محاولات استبداله ( Ali & Nozaki , 2007).

تعتبر النباتات احد اهم المصادر للعديد من العقاقير الطبية في شتى المجالات التي تم انتاجها بعد سلسلة من الدراسات والبحوث ( Ait *et al.*,2007) ونبات الحبة السوداء او ما يطلق عليها بحبة البركة في البلدان العربية والهند وبلدان الشرق الاوسط التي تعود الى العائلة الخوذانية او الشقيقيات Ranunculaceae (Mohammad *et al.*,2008) واحدة من اهم النباتات الطبية التي تستخدم في علاج العديد من الحالات المرضية اذ تستعمل كمسكن الام Analgesic ومضادة للالتهابات Antiflammatory ومضادة لارتفاع ضغط الدم Antihypertension وارتفاع السكر Antihyperglycemia ومضادة للاكسدة Antioxidant والحساسية Antiallergic والبكتريا Antibecterial والفطريات Antifungi والطفيليات AntiparasiteEl Saleh *et al.*,2004; Kanter *et al.*,2003; Zedlitz *et al.*,2002; Mahmoud *et al.*,2002) Dorucun *et al.*,2009 وذلك بسبب احتواءها على العديد من المكونات الفعالة ذات التاثيرات العلاجية مثل الفلافونيدات Flavinoids والتانينات tannins والاحماض الدهنية الاساسية Essential fatty acids والاحماض الامينية الاساسية Essential amino acids وحامض الاسكوربك Ascorbic acid والحديد والكالسيوم ومركبات اخرى (Mohammad,2008) ، وتحتوي على على مادة Nigellone وهي احد مضادات الاكسدة بالاضافة الى وجود حامض الارغينين و الكلوتاثيون الذي يلعب نفس الدور كمضاد للاكسدة ( Abdulelah *et al.*,2007).

## ٢- المواد وطرائق العمل

### ٢-١- المواد

**٢-١-١- الحيوانات المختبرية** : استعملت في الدراسة الحالية الفئران المختبرية البيضاء .Mus musculus L سلالة Balb/c بعمر ١٠ – ١٢ اسبوع ووزن ٢٢ – ٢٣ غرام والتي ربيت في البيت الحيواني التابع لقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ذي قار تحت الظروف القياسية (AL- Maliki,2000) وقد قسمت الى اربعة مجاميع تتكون كل مجموعة من ٨ حيوانات هي :

١- مجموعة السيطرة Control group التي عوملت بـ٠,٥ مل من المحلول الفسيولوجي
٢- المجموعة الثانية : جرعت بـ ٠,٥ مل من عالق اميبا النسيج.
٣- المجموعة الثالثة: جرعت بـ ١مل من عالق اميبا النسيج.
٤- المجموعة الرابعة : جرعت بـ امل من عالق اميبا النسيج وبعد التأكد من الاصابة بالطفيلي جرعت حيوانات هذه المجموعة بـ املغم من مستخلص بذور الحبة السوداء لمدة ١٠ ايام .

**٢-١-٢- المحاليل Solutions** استعملت في هذه الدراسة المحاليل التالية:

١- **عالق الأميبا Amoeba suspension** حضر العالق من تخفيف عينة الغائط المصاب والحاوي على الطور المتكيس بالماء المقطر بنسبة ١٠:١ ورشحت بأربع طبقات من الشاش ، اخذ ٢ مل من الراشح وأضيف إليه ٢ مل من المحلول الملحي

الفسيولوجي(NaCl 0.9%) ثم نبذ العالق بجهاز النبذ المركزي بسرعة ٢٥٠٠ دورة/دقيقة لمدة ٥ دقائق ، ثم أهمل الراسب واخذ الراشح واستخدم العالق الحاوي على الأكياس النقية في تجريع الحيوانات المختبرية حسب طريقة (Clark & ,2002) Diamond.

**٢- معلق الخميرة المقتولة Killed yeast suspension**

تم تحضيرمعلق الخميرة المقتولة (لغرض دراسة عملية البلعمة) حسب الخطوات التالية :

١- استخدمت خميرة الخبز الجافة *Saccharomyces cervisia* .

٢- علق 10 غرام من الخميرة المقتولة في (150) مل من المحلول الفسلجي المعقم.

٣- وضع العالق في حمام مائي يغلي لمدة ساعة ثم برد العالق ورشح عبر شاش ثنائي الطبقة معقم.

٤- قسم العالق على انابيب اختبار صغيرة سعة (5مل) ثم حفظت بالمجمدة (-20 م°) وعند الاستخدام اذيب العالق في حمام مائي ( 37م° ) وغسل مرتين قبل الاستخدام باستخدام المحلول الفسلجي المعقم .

**٣- محلول تركي Turkey solution :** استخدم في حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض( Haen , 1995).

**٤- محلول هانك الملحي المتوازن ( HBSS ) Hank's balanced salt solution**تم تحضيرهذا المحلول الذي يحتوي على ايونات الكالسيوم $Ca^{+2}$ والمغنيسيوم $Mg^{+2}$ باذابة المواد المدرجة في ادناه في حجم معين من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى (1000مل) وضبط الاس الهيدروجيني الى( PH 7.2 ) وقسم الى حجوم متساوية وعقم بالمؤصدة ثم حفظ في الثلاجة (4 م° ) لحين الاستعمال في قياس معامل البلعمة .

**٥- صبغة ليشمان Leishman's stain**حضرت الصبغة من اذابة 2.5 غرام من صبغة لشمان في 1.25 لتر من الكحول المثيلي مع التسخين بدرجة حرارة 60 م° ولمدة 30 دقيقة وحفظت لحين استعمالها في تجربة العد التفريقي لخلايا الدم البيض.

**٦- صبغة رايت Wright's stain** استعملت عدة فحص (Kit) لصبغة رايت مؤلفة من محلول التثبيت Fixative Solution ومحلول صبغة الايوسين Eosine ومحلول صبغة ازرق المثيلين Methylene Blue من انتاج شركة Syrbio من جمهورية سوريا العربية لغرض قياس معامل البلعمة.

**٧- مستخلص بذور الحبة السوداء Extract of *Nigella sativa* seeds**

تم استخلاص بذور الحبة السوداء حسب Alade & Irobi(1993)

**٢-٢- طرائق العمل Methods**

١- **وزن الحيوانات** بعد انتها مدة التجربة تم وزن الحيوانات ومقارنة الوزن احصائيا بين المجاميع الاربعة

٢- **معامل البلعمة** درست قابلية الخلايا البلعمية الموجودة في الدم المحيطي على التهام خلايا الخميرة المقتولة وحسب طريقة Mel-Calf *et al* . (1986) حيث مزج 0.025 ml من الدم المحيطي مع 0.05 ml من عالق الخميرة 0.025 ml من محلول هانكس الملحي المتوازن (HBSS ) في انبوبة اختبار معقمة ثم حضنت الانابيب في الحاضنة ( 37 ) م° لمدة نصف ساعة وحضرت مسحة دموية Blood Smear على شريحة زجاجية وتركت لتجف صبغت بصبغة رايت ( Wright's stain ) واستعملت عدة تصبيغ جاهزة (Diff – Quik stain , Syria ) حيث غمرت الشريحة في محلول التثبيت Fixative solution لمدة ( 2 ) دقيقة ثم غمرت في محلول صبغة الايوسين Eosin لمدة (10) دقائق ثم غمرت الشرائح في صبغت ازرق المثيلين Methylene blue لمدة ( 20 – 10 ) دقيقة بعد ذلك غسلت الشرائح بالماء الجاري وتركت لتجف وفحصت باستخدام المجهر الضوئي على قوة تكبير ( 100 x ) وحسب معامل البلعمة وفق المعادلة التالية :

$$\text{معامل البلعمة ( \% )} = \frac{\text{عدد الخلايا المتبلعمة}}{\text{العدد الكلي لخلايا البلعمة}} \times 100$$

٣- **جمع عينات الدم** بعد انتهاء مدة التجربة شرحت ذكور الفئران فحوصات معايير الدم وحفظت الاعضاء لغرض التقطيع النسيجي.

٤- **قياس مستوى خضاب الدم Hemoglobin concentration** تم قياس تركيز الهيموغلوبين باستعمال جهاز ساهلي وحسب (Lewis *et al* . , 2001).

٥- **قياس حجم كريات الدم الحمر المضغوطة Haematocrite** تم قياس حجم كريات الدم الحمر المضغوط باستعمال جهاز الهيماتوكريت الدقيق Microhaematocrite وحسب طريقة ( Lewis *et al* . , 2001 )

٦- **العد الكلي لخلايا الدم البيض The total count of leukocytes** تم حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض باستعمال Haemocytometer وحسب طريقة ( Lewis *et al* . , 2001)

٧- **العد التفريقي لخلايا الدم البيض The differential count of leukocytes** تم تحديد العد التفريقي لخلايا الدم البيض حسب ( Schaechter *et al* . (1999 .

المختبرية بعد تخديرها وسحب الدم من القلب مباشرة لغرض اجراء

٨- **تحضير المقاطع النسجية** استعملت طريقة Humason, G.L. (1972). في تحضير مقاطع الانسجة التي شملتها الدراسة ( الخصى والكبد والكلية).

٩- **التحليل الاحصائي** تم استعمال برنامج الحاسوب SPSS13 في تحليل النتائج احصائيا.

## ٣- النتائج

### ٣-١- وزن الحيوانات ومعامل البلعمة

بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاضا في وزن جسم ذكور الفئران المختبرية في المجموعتين الثانية والثالثة وصل الى المعنوية في المجموعة الثالثة وارتفاع غير معنوي في المجموعة الرابعة مقارنة مع مجموعة السيطرة ($p\leq0.05$).

اظهرت النتائج كذلك ارتفاعا معنويا في معامل البلعمة في المجموعتين الثانية والثالثة وارتفاعا غير معنوي في المجموعة الرابعة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال $p\leq0.05$ وكما مبين في الجدول (١).

جدول (١):يبين تاثير المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء في وزن الجسم و معامل البلعمة لذكور الفئران المختبرية المصابة بطفيلي اميبا النسيج

| المعايير / المجاميع | معدل الوزن (غم) | معامل البلعمة (%) |
|---|---|---|
| المجموعة الاولى المعاملة بـ ٠,٥ مل من المحلول الفسيولوجي (مجموعة السيطرة) | 23.56 ab ±1.04 | 48.6 a ±1.07 |
| المجموعة الثانية المعاملة بـ ٠,٥ مل من عالق الطفيلي | 22.68 ab ± 0.76 | 64.0 b ±2.58 |
| المجموعة الثالثة المعاملة بـ١ مل من عالق الطفيلي | 21.5 b ±1.16± | 66.5 b ± 3.59 |
| المجموعة الرابعة المعالجة بـ١ملغم مستخلص بذور الحبة السوداء | 25.04 a ± 0.86 | 53.0 a ± 2.93 |

**٣-٢- المعايير الدموية**

اظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول انخفاضا غير معنوي في تركيز نسبة خضاب الدم Hb في المجموعتين الثانية المعاملة بـ 0.5 مل من عالق اميبا النسيج والمجموعة الثالثة المعاملة بـ 1 مل من عالق اميبا النسيج عند المقارنة مع مجموعة السيطرة المعاملة بـ ١مل المحلول الفسيولوجي Nacl 0.9% ($p\leq0.05$), فيما نلاحظ ارتفاع غير معنوي في تركيز الهيموغلوبين في المجموعة الرابعة المعالجة بالمستخلص المائي لبذور نبات الحبة السوداء بعد الاصابة بالطفيلي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال $p\leq0.05$. وبينت نتائج هذه الدراسة حصول انخفاضا معنويا في قيمة .P.C.V في المجموعتين الثانية والثالثة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة في حين كانت قيمة .P.C.V في المجموعة الرابعة المعالجة بمستخلص بذور الحبة السوداء لم تختلف معنويا عن قيمتها في مجموعة السيطرة ($p\leq0.05$).

كما بينت النتائج حصول ارتفاعا معنويا في العدد الكلي لخلايا الدم البيض .W.B.C في المجموعتين الثانية والثالثة المجرعتين بعالق الطفيلي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة وبينت نتائج الدراسة ان العدد الكلي للخلايا البيض في المجموعة الرابعة لم يختلف معنويا عن مجموعة السيطرة ( $p\leq0.05$) .

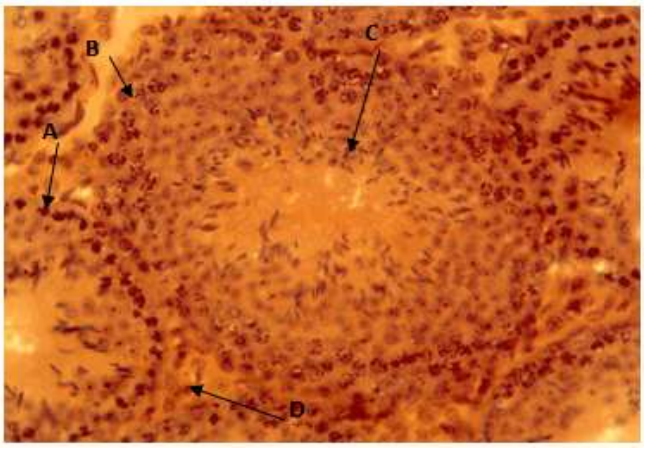
اظهرت نتائج العد التفريقي للخلايا البيض حصول ارتفاعا معنويا في نسبة اعداد الخلايا اللمفية Lymphocytes في المجموعتين الثانية والثالثة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة كما بينت نتائج المعالجة بالمستخلص المائي لبذور الحبة السوداء عدم وجود فرق معنوي بين المجموعة الرابعة و مجموعة السيطرة وبينت النتائج كذلك انخفاضا معنويا في نسبة اعداد الخلايا الوحيدة في المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة وعدم وجود فرق معنوي بين المجموعة الرابعة ومجموعة السيطرة عند مستوى الاحتمال $p\leq0.05$. اوضحت النتائج كذلك انخفاضا معنويا في نسبة الخلايا المتعادلة في المجموعة الثانية وغير معنوي في المجموعة الثالثة عند المقارنة مع مجموعة السيطرة وتشابه النسبة بين المجموعة الرابعة ومجموعة السيطرة عند مستوى احتمال $p\leq0.05$ وبينت النتائج ايضا ارتفاعا معنويا في نسبة الخلايا البيض الحمضة في المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة فيما لم يكن هناك فرقا معنويا بين المجموعتين الرابعة ومجموعة السيطرة عند مستوى الاحتمال المذكور وفي نفس السياق لم تظهر النتائج اية فروقات معنوية في نسبة الخلايا القعدة بين المجاميع الاربعة عند مستوى احتمال $p\leq0.05$ وكما مبين في الجدول (٢).

جدول (٢) :يبين تاثير المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء في المعايير الدموية لذكور الفئران المختبريةالمصابة بطفيلي اميبا النسيج.

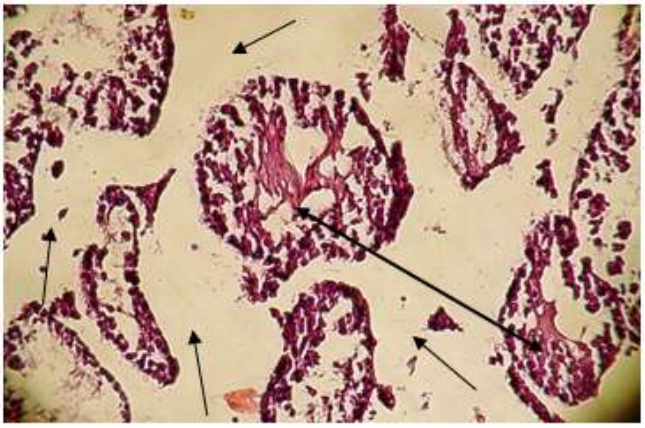
| المعايير / المجاميع | تركيز الهيموغلوبين gm/dl | حجم كريات الدم الحمر المنضغطة | العدد الكلي لخلايا الدم البيض $x10^3$ | الخلايا اللمفية (%) | الخلايا الوحيدة (%) | الخلايا المتعادلة (%) | الخلايا الحمضة (%) | الخلايا القعدة (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| المجموعة الاولى (٠,٥ مل محلول فسيولوجي) مجموعة السيطرة | 11.8 abc ± 0.17 | 37.0 ab ± 0.005 | 5.66 a ± 0.46 | 23.2 a ± 0.58 | 9.8 a ± 0.66 | 63.0 a ± 0.94 | 2.8 a ± 0.37 | 0.8 a ± 0.37 |
| المجموعة الثانية المعاملة بـ ٠,٥ مل من عالق الطفيلي | 11.08 a ± 0.3 | 34.0 bc ± 0.01 | 9.86 b ± 0.55 | 32.2 b ± 3.77 | 4.0 b ± 1.58 | 58.2 b ± 2.55 | 5.8 b ± 1.35 | 0.6 a ± 0.4 |
| المجموعة الثالثة المعاملة بـ١ مل من عالق الطفيلي | 10.8 bc ±0.21 | 33.0 c ± 0.08 | 7.95 c ± 0.81 | 28.0 b ± 3.29 | 5.25 b ± 1.25 | 60.0 ab ± 1.77 | 5.2 b ± 0.47 | 0.75 a ± 0.47 |
| المجموعة الرابعة المعالجة بـ١ملغم من مستخلص بذور الحبة السوداء | 12.6 a ± 0.51 | 39.0 a ± 0.015 | 5.34 a ± 0.39 | 23.6 a ± 1.5 | 11.2 a ± 0.58 | 64.0 a ± 1.49 | 2.2 a ±3.7 | 0.6 a ± 0.24 |

**٣-٣- التاثيرات النسجية لطفيلي اميبا النسيج**

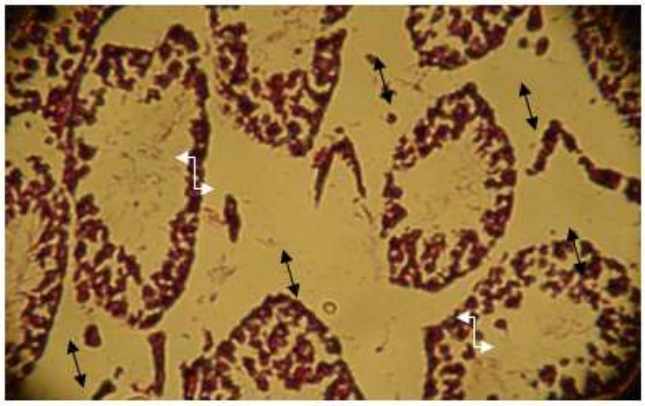
اوضحت نتائج الدراسة الحالية حصول تغييرات نسيجية واضحة في الاعضاء التي شملتها الدراسة (الخصية،الكبد ،الكلية) وخاصة في المجموعة الثالثة المعاملة بـ امل من عالق الطفيلي تمثلت بتحلل النسيج البيني في الخصية والنزف في النبيبات المنوية وانخفاض اعداد الخلايا في مراحل تكوين الحيامن كمابينت النتائج حصول الاحتقان الدموي في الاوردة الكبدية وارتشاح الخلايا الكبدية والالتهاب والنزف في النسيج الكبدي وتضخم انوية الخلايا الكبدية وتوسع اشباه الجيوب الكبدية اما بالنسبة للكلية فقد بينت نتائج الدراسة النسجية حصول توسع في فراغ محفظة بومان وبقع نزفيه واختزال المجموعة الشعرية المكونة للكبيبة الكلوية ، وكما يلاحظ انخفاض مستوى التاثير النسيجي في اعضاء ذكور الفئران المصابة بالطفيلي والمعالجة بمستخلص بذور الحبة السوداء عند المقارنة مع المجموعتين الثانية والثالثة وكما موضح في الصور ( ١ – ١٥)



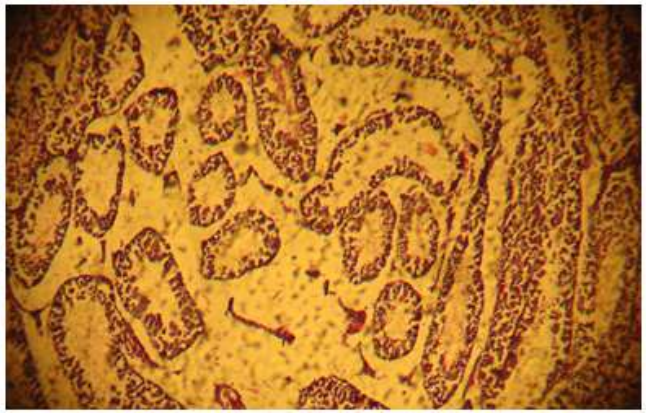

صورة (١): مقطع عرضي في خصية فأر من مجموعة السيطرة(E&H)x200 يوضح المراحل المختلفة لتكوين الحيامن وتماسك النسيج البيني A – خلايا سليفات الحيامن ,B – خلايا الحيامن الابتدائية ,C– طلائع الحيامن ,D – النسيج البيني



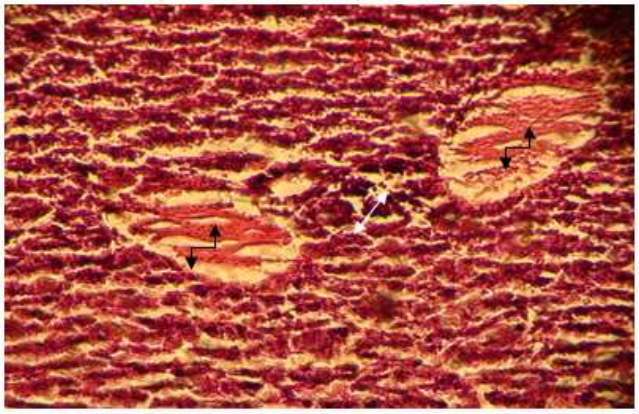
صورة (٢): مقطع عرضي في خصية فأر معامل بعالق الطفيلي (E&H)x200يوضح حصول النزف في النبيبات المنوية (السهم ↕) وتحلل النسيج البيني (الاسهم ↗)



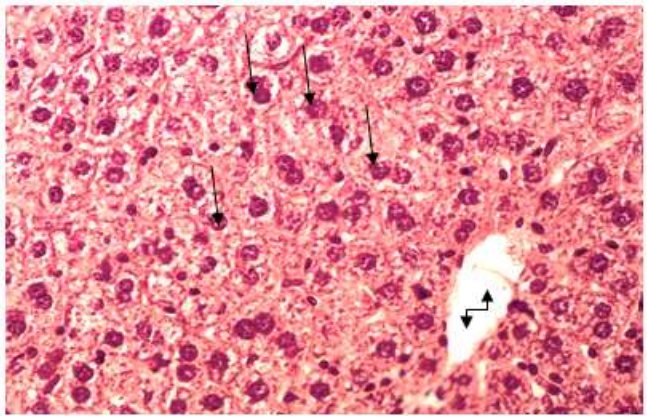
صورة (٣): مقطع عرضي في خصية فأر معامل بعالق الطفيلي (E&H)x200 يوضح تحلل النسيج البيني (↕) وانخفاض اعداد خلايا مراحل تكوين الحيامن وتداخلها مع بعضها ( ↵ )



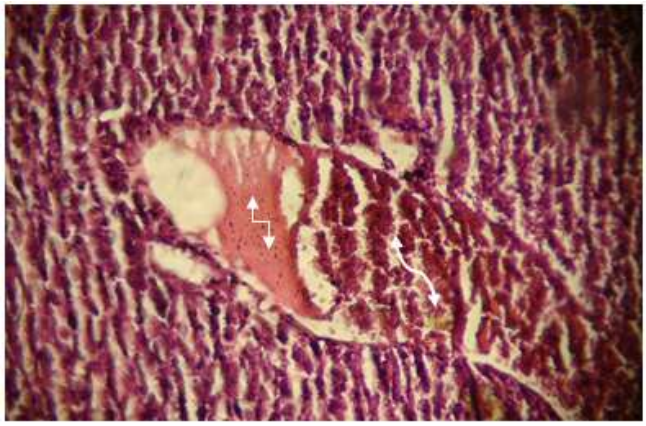
صورة(٤) : مقطع عرضي في خصية فأر معالج بمستخلص بذور الحبة السوداء بعد الاصابة بالطفيلي (المجموعة الرابعة) 200x(E&H) يوضح انخفاض مستوى التاثير النسجي لاميبا النسيج



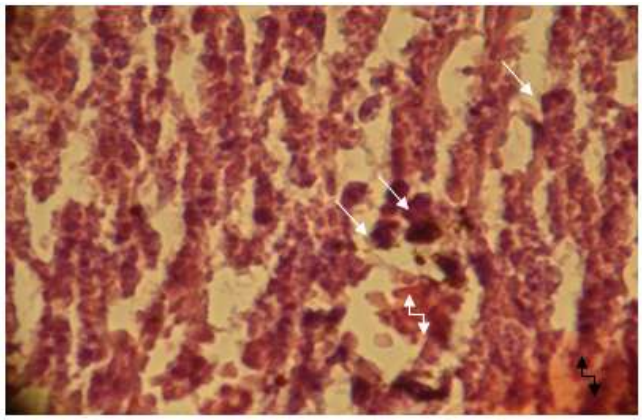
صورة (٦): مقطع عرضي في كبد فأر معامل بعالق الطفيلي400x(E&H) يوضح الاحتقان في الاوردة الكبدية ( ⮁ ) وارتشاح الخلايا الالتهابية ( ⤢ )



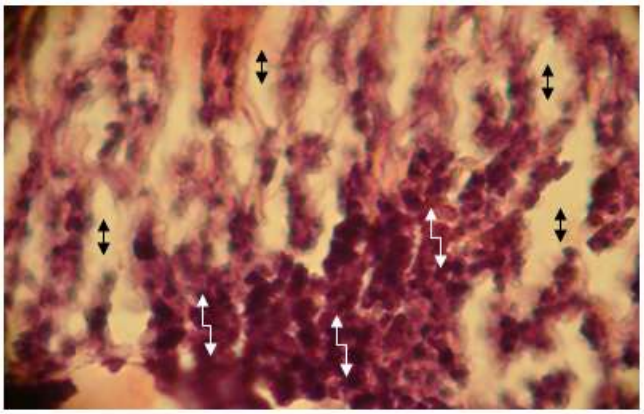
صورة(٥): مقطع عرضي في كبد فارمن مجموعة السيطرة 400x(E&H) (انوية الخلايا الكبدية ⤢ ) الوريد المركزي( ⮁)



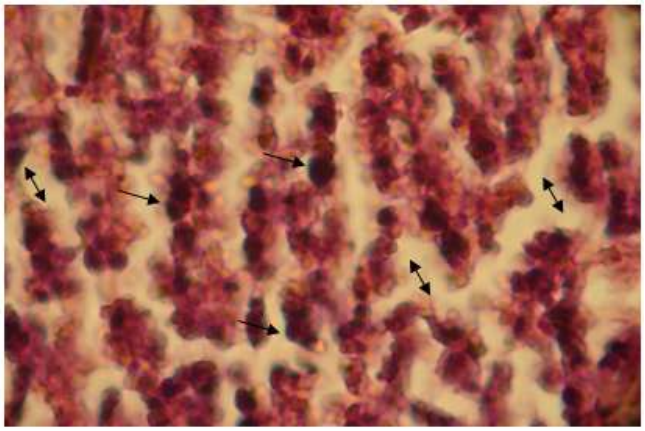
صورة(٧): مقطع عرضي في كبد فأر معامل بعالق الطفيلي 400x(E&H) يوضح الالتهاب ( ⤡ ) الاحتقان في الوريد البابي الكبدي ( ⮁ )



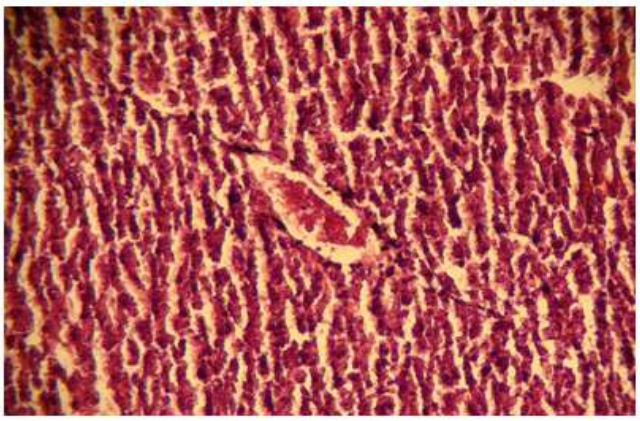
صورة(٨): مقطع عرضي في فأر معامل بعالق الطفيلي(E&H)400x يوضح تضخم انوية الخلايا الكبدية ( ↘ ) وحصول النزف ( ↕ )



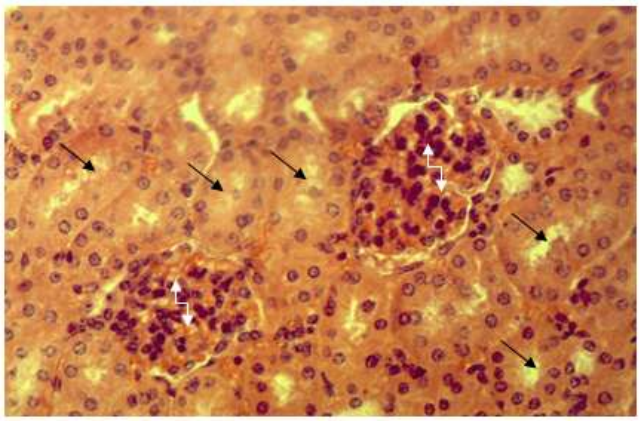
صورة(٩):مقطع عرضي في كبد فأرمعامل بعالق الطفيلي (E&H)400xيوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية ( ↕ ) وتوسع اشباه الجيوب الكبدية ( ↕ )



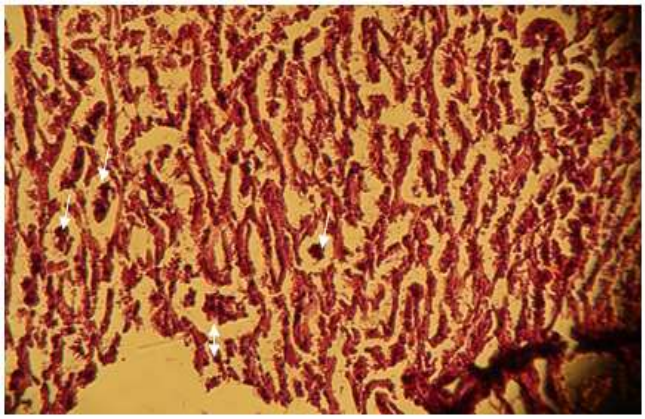
صورة(١٠): مقطع عرضي في كبد فأر معامل بعالق الطفيلي (E&H)400xيوضح تضخم انوية الخلايا الكبدية ( ↘ ) وتوسع اشباه الجيوب ( ↕ )



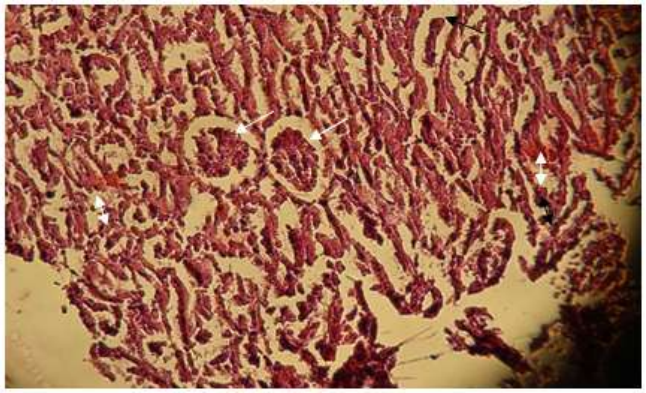
صورة (١١): مقطع عرضي في كبد فأر مصاب باميبا النسيج ومعالج بمستخلص بذور الحبة السوداء(المجموعة الرابعة)(E&H)400x يوضح انخفاض مستوى التاثير



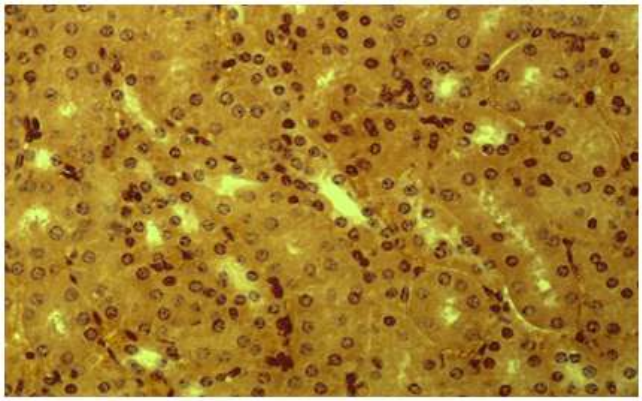
صورة (١٢): مقطع عرضي في كلية فار من مجموعة السيطرة (E&H)400x يوضح الكبيبة الكلوية ( ↕ ) والنبيبات الكلوية ( ↓ )



صور(١٤): مقطع عرضي في كلية فأر معامل بعالق الطفيلي (E&H)400x يوضح اختزال الكبيبة الكلوية ( ↓ ) وتوسع فراغ الكبيبة ( ↕ )



صور(١٣): مقطع عرضي في كلية فأرمعامل بعالق الطفيلي(E&H)400x يوضح توسع فراغ محفظة بومان ( ↓ ) وبقع نزفيه ( ↕ )



صورة(١٥) : مقطع عرضي في كلية فأر مصاب باميبا النسيج ومعالج بمستخلص بذور الحبة السوداء(E&H)400x يوضح انخفاض مستوى التأثير

## ٤ – المناقشة

بينت نتائج الدراسة انخفاضا في وزن ذكور الفئران المعاملة بعالق الطفيلي ،وقد يعود السبب الى كون الطفيلي يتسبب بما يعرف بسوء التغذية وحالات الاسهال المتكرر(التي تمت ملاحظتها على الحيوانات المعاملة بعالق الطفيلي) التي تحرم الحيوانات من الاستفادة من المواد الغذائية المتناولة رغم قلتها والتاثير على امتصاصها وهذا مايسبب في النتيجة انخفاض وزن الحيوانات المصابة بالطفيليات كما ان موقع تاثير الطفيلي في الجسم هو القناة الهضمية المسؤولة عن هضم المواد الغذائية وامتصاصها وفي كل الحالات فان الامر ينعكس سلبيا على تجهيز الجسم بالمواد الغذائية الضرورية لبناءه التي بفقدانها ينخفض وزن الجسم وقد اشار Caler & Lorinzi (2010) الى ان انخفاض الوزن من التاثيرات الصحية السلبية للاصابة باميبا النسيج بسبب طريقة تغذيتها ومواقع اصابتها ،فيما بين Ali *et al.*(2005) و Petri *et al.*(2000) ان الاصابة بالاسهال والدزنتري وهو اسهال مصحوب بالدم وخراج الكبد من اهم الاعراض للاصابة باميبا النسيج والتي تنعكس سلبا على حالة الحيوان الفسلجية ووزنه ومعاييره الدموية.

او يكون السبب في ذلك حصول حالة سوء التغذية Malnutrition في الحيوانات المعاملة بعالق الطفيلي التي تعتبر محورا مشتركا في تفسير انخفاض وزن الجسم وانخفاض تركيز الهيموغلوبين وحجم كريات الدم الحمر المنضغطة في الحيوانات المعاملة بعالق الطفيلي فقد اوضح Mondal *et al.*(2006) و Tarleton *et al.*(2006) ان الاصابة بالطفيليات وبالذات اميبا النسيج يتسبب بسوء تغذية للمضيف ويؤدي الى خلل في نمو الجسم وبالتالي انخفاض وزنه .

كما بينت النتائج ارتفاعا معنويا في معامل البلعمة في الحيوانات المعاملة بعالق الطفيلي (المجموعتين الثانية والثالثة ) الامر الذي قد يعود الى كون عملية البلعمة هي مقياس لقدرة الخلايا البلعمية على القتل الخلوي للعوامل الممرضة والجزيئات الغريبة والسامة ( Mel–Calf *et al* . , 1986 ) ولذا يمكن الاستنتاج بان قدرة الخلايا البلعمية على القتل الخلوي قد ازدادت بسبب التهديد الطفيلي للجسم واستجابة الجهاز المناعي في الجسم للقيام بالدفاع عن الجسم والتي تشكل عملية التبلعم احد اهم اركانها عند حصول الاصابات الطفيلية ( Hideyuki, 2002) .

وتعدّ عملية البلعمة مكملة لعمل الاضداد المناعية ضد الطفيلي كما ان الخلايا البلعمية تقوم بانتاج اوكسيد النتريك ( No ) بعد تحفيزها من قبل ( IFN – γ ) والذي يعد من العوامل المهمة في مقاومة الطفيلي (Khan *et al* . , 1999) وتتفق الدراسة الحالية مع دراسة (العبيدي ،2011) والذي وجد ارتفاعا في نسبة معامل البلعمة بسبب الاصابة الطفيلية.

كما اوضحت نتائج هذه الدراسة الحالية انخفاض مستوى خضاب الدم Hb وحجم الدم المضغوط .P.C.V في ذكور الفئران المختبرية المصابة بالطفيلي (المجموعة الثانية والثالثة) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة فيما نلاحظ تقارب القيم بين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة المصابة بالطفيلي والتي عولجت بمستخلص بذور الحبة السوداء، ان سبب هذا الانخفاض قد يعود الى الاصابة الطفيلية باميبا النسيج التي تسبب استهلاكا للفيتامينات مثل $B_{12}$ , $B_6$ , C وهي من العوامل المهمة في عملية تكوين كريات الدم الحمر سواء من خلال التاثير على امتصاص الحديد في الامعاء او على عملية تكوين الكريات ومن المعروف ان تركيز الهيموغلوبين وحجم كريات الدم الحمر يعتمدان بشكل مباشر على تعداد كريات الدم الحمراء .

وقد يكون السبب كما سبقت الاشارة الى سوء التغذية الناتج من الاصابة باميبا النسيج فقد اوضح Oluwafemi (2003) ان سوء التغذية الناتج من الاصابات الطفيلية يكون من الاسباب المباشرة للاصابة بفقر الدم وان العلاقة مابين الاصابات الطفيلية وفقر الدم ثابتة ومترابطة وتعتمد على العديد من العوامل منها العمر ونوع الطفيلي وسلالته ومستوى النظام المناعي للمضيف ونوع المواد الغذائية واحتواءها على العناصر الاساسية لتكوين كريات الدم الحمر مثل الحديد وحامض الفوليك اسيد والفيتامينات .

او ربما يكون السبب قدرة اميبا النسيج على تحطيم الاغشية البلازمية لكريات الدم الحمر وحصول التحلل الدموي والذي يسبب انخفاض اعداد الكريات الحمر والتي تتناسب طرديا في معظم الحالات مع تركيز الهيموغلوبين وحجم كريات الحمر المضغوط، فقد اشار Vanessa *et al.*(2011) الى قدرة اميبا النسيج في احيان كثيرة على التغلب على دفاعات الجسم وتحطيم اغشية الكريات الحمر البلازمية وبالتالي انخفاض عددها (الذي يعني انخفاض تركيز الهيموغلوبين وحجم كريات الدم الحمر المضغوط) ومراوغة الخلايا البيض المتعادلة والتخلص من عملها الدفاعي والالتهامي.

اويكون السبب هو كون اميبا النسيج من الطفيليات المعوية التي تهاجم بطانة الامعاء وتتغذى على دم المضيف وبالتالي انخفاض تركيز الهيموغلوبين وحجم الكريات المضغوط ( Stolte & Vogel , 1991 ) وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة العبيدي (2011 ) .

كما بينت النتائج ارتفاعا معنويا في العدد الكلي لخلايا الدم البيض الذي تركز في زيادة نسبة اعداد الخلايا اللمفية والخلايا الحمضة ،ان ارتفاع اعداد الخلايا البيض يعتبر امرا طبيعيا نتيجة التهديد التي تمثله الاصابة الطفيلية ، كما ان الخلايا الحمضة تمتاز بمقاومتها للاصابة الطفيلية حيث يزداد عددها وتنشط استجابتها المناعية عند التعرض للاصابة الطفيلية ( Lydyard and Grossi , 1998 ) وتتراوح نسبة هذه الخلايا 2-5% من مجموع خلايا الدم البيض ( Junqueira and Carneira , 2005 ) ويعد ارتفاع الخلايا الحمضة في الدم المحيطي من مميزات الاصابات الطفيلية والامراض الجلدية ( Fukuda and Gleich , 1989 ) كما ذكر غايتون وهول، (1997) ان الخلايا الحمضة تمتلك جزيئات خاصة ومواد تقتل الطفيليات ، ومن هذا يصبح من الواضح ان الاصابة بطفيلي اميبا النسيج قد يكون هو السبب في زيادة نسبة الخلايا الحمضة، كما ان للذيفانات الجرثومية والنواتج التنكسية لتاثير الطفيلي في الانسجة دورا كبيرا في اطلاق خزين خلايا الدم البيض من نخاع العظم وزيادة انتاجها هناك وارتفاع اعدادها في مجرى الدم من خلال اطلاق السايتوكاينيز الالتهابي والذي يحفز نخاع العظم على انتاج الخلايا البيض باعداد كبيرة ، ولم تتفق الدراسة الحالية مع دراسة ( الشيخ ، 2004 ) .

بينت نتائج الدراسة الحالية العديد من التغييرات النسجية في الاعضاء التي شملتها الدراسة (الخصية ، الكبد ، الكلية) ، ان هذه التغييرات النسجية قد تعود الى قدرة الطفيلي على اختراق الاغشية المخاطية للامعاء والوصول االى الاعضاء الجسمية المختلفة ومن ضمنها الكبد وحصول التنخر عن طريق الدم كما اشار الى ذلك Devinder *et al.*(1996) ، فيما اشار Petri & Singh (1999) الى ان الاصابات الطفيلية تصيب الامعاء ولكنها تصل الى اعضاء اخرى من الجسم مثل الكبد والدماغ والطحال مسببة تغييرات نسجية واضحة في تلك الاعضاء وفي نفس السياق اوضح McCoy *et al.*(1994) الى ان لاميبا النسيج القدرة على اختراق خلايا المضيف وتحطيم تلك الخلايا ، وتسبب تغييرات نسجية وتلفا نسيجيا في الاعضاء ومنها الكبد وخاصة خراج الكبد (Karin *et al.*,2001)

وقد يكون السبب في التغييرات النسجية هو انتاج الانترلوكينات الالتهابية فقد بين Zhi *et al.*(2002) ان اميبا النسيج قادرة على التسبب بالالتهابات من خلال تنشيط استنساخ عامل NF-kB وتحفيز اطلاق الوسائط الالتهابية اذ تقوم الخلايا الطلائية بانتاج الانترلوكين ١ IL-IB والذي يسبب تدفق الخلايا الالتهابية الى الطبقة المخاطية وتسبب التلف النسيجي Tissue damage والالتهابات المعوية والذي يسبب هو الاخر تحفيز الخلايا الطلائية المجاورة.

اما بالنسبة لجانب العلاج بالحبة السوداء والتي اوضحت صفات علاجية واضحة لاسيما في جانب المعايير الدموية وجانب الوزن ومعامل البلعمة فقد اكدت العديد من الدراسات على الصفات العلاجية للحبة السوداء سواء كان ذلك في مجال الاصابات الطفيلية او غيرها فقد اشار Abdulelah & Zainal-Abidin (2007) الى ان زيت الحبة السوداء يحتوي على العديد من الاحماض الدهنية الاساسية والكلوتاثيون وحامض الارغينين وهي مضادات اكسدة طبيعية تجابه التاثيرات التاكسدية للعديد من

العوامل المؤكسدة ، فيما بين Khan *et al.*(2003) في دراسته قدرة مستخلص بذور الحبة السوداء على تثبيط شديد في نمو المبيضات البيض ، وفي نفس السياق اشار Iddamaldeniya *et al.*(2003) الى ان اعطاء مزيج من المستخلصات الحاوية على مستخلص بذور الحبة السوداء اعطى تاثيرات علاجية مضادة لنمو الخلايا السرطانية في الكبد ومن جانب اخر بين El–Dakhakhny ان اعطاء مستخلص بذور الحبة السوداء الى الحيوانات المختبرية سبب انخفاضا في تركيز الكولسترول وارتفاع نسبة الهيموغلوبين وخفض تركيز سكر الدم والدهون الثلاثية المتعادلة ، هذا وقد استعملها العديد من الباحثين ونظرا لخصائصها العلاجية كمضادات للبكتريا Antibacterial ومضادات لارتفاع ضغط الدم Antihypertension والتي سبق وان اشير اليها في مقدمة البحث واكدت بعضها نتائج هذه الدراسة.

References

**المصادر العربية**


- الشيخ , سلمى خمو فرنسيس (2004) . بعض التاثيرات المناعية لطفيلي Toxoplasma gondii في النساء المجهضات ،رسالة ماجستير , جامعة بغداد ،كلية العلوم للبنات ، صفحة 104 .

- العبيدي, نادية احمد هادي (2011). التحري عن بروتين الصدمة الحرارية Hsp70 بين النساء المجهضات والمصابات بطفيلي Toxoplasma gondii في محافظة ذي قار, رسالة ماجستير, جامعة ذي قار, كلية التربية للعلوم الصرفة,صفحة 101 .

- غايتون ، آ . س . وهول ، ج . إ . (1997) . المرجع في الفيزيولوجيا الطبية . ترجمة صادق الهلالي . ط ٩ . منظمة الصحة العالمية . صفحة 1295 .


**المصادر الاجنبية**


- **Abdulelah, H. & Zainal-Abidin, B. (2007).** Curative and prophylactic anti-malarial activities of Nigella sativa (black seed) in mice. The Malaysian Journal of Medical Sciences, 14: 209.

- **Ait M.; Bebsaleh, M.; Aboufatima, R. & Dalal,A. (2007).**Anti-tumor properties black seeds (Nigella sativa) extract.Braz.J.Med.Biol.Res.23:1-9.

- **Alade, P. & Irobi, O. (1993).** Antimicrobial activities of crude leaf extracts of Acalypha wilkensian .J.Enthanopharmacology.39:171-174.

- **Ali, V. & Nozaki, T.(2007).**Current therapeutic their problems and sulfur-containing –amino acid metabolism as a novel target against infection by amitiochondriate protozoa parasites,Clin.Microbial.Rev.20:164-187.

- **Ali.K.; Zaki, M.; Clark, G.(2005).**Use of PCR amplication of tRNA gene-linked short tandem repeats for genotyping *Entamoeba histolytica*. J. Clin. Mic. 43: 5842-5847.

- **Al- Maliki, S.J. (2000).** A behavioral and some physiological effect of (apum graveolens) seeds in albino mice . J. Sci. Bas. 18 (2) :77-88 .

- **Avelina, E.; Georye, D.; Guillermo, P.; regine, L. & Monicha, P.(2009).** Effects of Iron depletion on *Entamoeba histolytica* alcohol dehydrogenase 2(EhAD) H2) and trophozoite growth: implications for antiamoeba therapy .J.Antimicrobial chemotherapy, 36:675-678.

- **Caler, E & Lorenzi, H (2010).** "*Entamoeba histolytica*: Genome Status and Web Resources". Anaerobic Parasitic Protozoa: Genomics and Molecular Biology.

- **Clark & Diamond (2002).**Method for cultivation of huminal parasitic protists of clinical importance .Clin.Microiol. Rev.15(2):329-341.

against diethylnitrosoamine-induced hepatocarcinogenesis by an indigenous medicine omprised of Nigella sativa, Hemidesmus indicus and Smilax glabra: a preliminary study. J Carcinog. 18;2(1):6.

- **Humason, G.L. (1972).** Animal tissue techniques. Freeman, W.H. (3th ed.) , San Francisco press. UAS.PP.641.

- **Junqueira, L.C. and Carneira, J.(2005) .** Basic histology: text and atlas . 11th ed. Mc Graw – Hill , USA , pp : 502 .

- **Khan, M.; Ashfaq, M.; Zuberi, H.; Mahmood, M. & Gilain, A.(2003).**The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. Phytother Res.17(2):183-186.

- **Khan, I.A. and Kasper, L.H.(1996).** IL-15 augments CD8+ Tcell-mediated immunity against *Toxoplasma gondii* infection in mice. J. Immunol ; 157:2103 – 2108 .

- **Kantar, M.; Meral, I.Yener, Z. ; Ozbek, H. & Dermire, H.(2003).**partial regenera-tion /proliferation of the beta-cells in the islets of langerhans by *Nigella sativa* L. instreptozotocin-induced diabetic rats.The Tohoku ,J. Exper .Med. 201(4):213-219.

- **Karin, S.; Mickael, D.; Walther, H.; Wernsdorfer, H.; Kollaritsch, O.Scheiner, G.; Wieddermann, T.&Hansjorg, E.(2001).**Effect of Miltefosine and other alkynphosphocholines on human intestinal parasite *Entamoeba histolytica* antimicrob agents chemother .45(5):1505-1510.

- **Lewis, S.; Bain, J. & Bates, I. (2001).** Practical Hematology 9 th ed , Chap. 3: 19-41 .

- **Lydyard, p. and Grossi. (1998).** Cells involved in the immune response. in: Roitt.J.B.and Male,D.(eds.) Immunology,5th ,Mosby internation . Ltd

- **Devinder, S. ; Alok, B. & Sudha, B. (1996).** Pathogenesis of infection by *Entamoeba histolotica* .J.Biosci.21 (3):423-432.

- **Dorucu, M.; Ozesen, C.; Ispir, U.; Altinterin, B. & Celayir, Y.(2009).**The effect of Black Cumin seeds,Nigella sativa ,on the Immune Response of Rainbow Trout ,Oncorhynchus mykiss .Mediterranean Aquacuhure J.2(1):27-23.

- **El-Dakhakhny, M.; Mady, N.& Halim, M.(2000).** Nigella sativa L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. Arzneimittelforschung. 50(9):832-836.

- **El saleh, S.; Alsagair, O. & Al khalaf,M.(2004).**Thymoguinone and *Niglla sativa* protection against methionin-induced hyperhomocysteinemia in rats.Internation J.Cardio.,39(1):19-23.

- **Espinosa, A.; Yan, L. & Zhaug , S.(2001).**The bifunctional *Entamoeba histolytica* alcohol dehydrogenase 2(EhADH2) protein is necessary for amoebic growth and survival and requires an intact C-terminal domain for both alcohol dehydrogenase activity. J.Biol.Chem.276:20136-20143.

- **Funkuda, M. & Glecih, A.(1989).** Heterogeneity of human eosinophiles .J.aller . Clin.Immunol.83:369-375.

- **Hean, p . J. (1995).** principles of Hematology, edited by to 2ind aharris. Yanng. W. B. Publisher, London.

- **Hideyuki,N.(2002).**Host Immune system against Toxoplasma infection .National research center for protozo diseases ,Jan.J.protozool.35(1):8555-8580.

- **Iddamaldeniya, S.; Wickramasinghe, N.; Thabrew, I.; Ratnatunge, N.& Thammitiyagodage, M.(2003).** Protection

- **Schaechter, M. ; Engleberg, N. ; Eisenstein, B. and Medoff , G. (1999).** Mechanism of Micro biology Disease. Third Edittion A wolter Kluwer company. PP. 173 – 183.

- **Stolte, M. & Vogele, H. (1991).** Giardiasis – Asimple diagnosis that is often delayed. Gastro – entrol. ; 29: 373 – 384.

- **Tarleton J.; Haque, R.; Mondal, D.; Shu, J.& Farr B. (2006).** Cognitive effects of diarrhea, malnutrition, and *Entamoeba histolytica* infection on school age children in Dhaka, Bangladesh. Am J Trop Med Hyg 74: 475– 481.

- **Wkly, A(1997).** "Amoebiasis". Epidemiol. Rec. 72 (14): 97–99.

- **Vanessa,K.;Leanne,M.&kris,C.(2011).**Entamo eba histolotica cathepsin – linke Enzymes . Advances in Experimental medicine and biology 712:62-83.

- **Zedlitz, S.; Kanfman, R. & Boehncke, W.(2002).** Allergic contact dermatitis from black cumin (*Nigella sativa*) oil-containing ointment-contact Dermatitis. 79(1):1-11.

- **Zhi, Z.; Le, Y.; Lei, W.; Karl, B.; Ellen, L.; Serge, A.; David, M. & Samual, S.(2002).**Entamoeba histolitica cystein protinases with interlukin-1beta converting enzymes (ICE)activity causes intestinal inflammation and tissue damage in amoebosis .molecular microbiology, 37(3):542-548.

- **Mahmoud, M.; El-Abhar, H.&Saleh, S.(2002).**The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Shistosoma mansoni* infection in mice .J.Ethnopharma.79(1):1-11.

- **McCoy, J.; Mann, B. & Petri, W.(1994).**Adherence and cytotoxicity of *Entamoeba histolotica* or how lectins let parasite stick around.infection and immunity 62:3045-3050.

- **Mel-Calf, J. A. ; Gallin,J. ; Nanseef ,F. & Root,R.K.(1986).** Laboratory Manual of Neutrophil Function .Raven.press.New York. PP:84-90.

- **Mohammed, A.(2008).**Black seed *Niglla sativa* deverses more attention .J.Ayub. Med.20(2):1-2.

- **Mondal, D. Petri. W. Sack, R. Kirkpatrick, B.& Haque, R. (2006).** *Entamoeba histolytica*-associated diarrheal illness is negatively associated with the growth of preschool children: evidence from a prospective study. Trans R Soc Trop Med Hyg 100: 1032–1038.

- **Olawafemi, O.(2003).**Parasitic infestation and anaemia :The prevalence in rural Hospital setting .J.Indian academy of clinical medicine .4(3):210-212.

- **Petri, W. ; Haque, R.; Lyerly, D.& Vines, R. (2000).** Estimating the impact of amebiasis on health. Parasitol Today 16: 320–321.

- **Petri, W. & Singh, U.(1999).**Diagnosis and management of amebiasis.Clinical infections diseases ,29:1117-1125.

- **Ryan K.& Ray, C. (2004).** *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. pp. 733–38.