دراسة تأثير المستخلصين المائي والكحولي لنبات ذنب الخيل المحلي *Equisetum arvense* L. على بعض معايير الدم في ذكور الفئران البيض

Study on the effect of the water and erhanolicextract of *Equisetum arvense L.* on some Hematological Parameters in the Albino mice

سيلفا انترانيك زوكيان بان جاسم محمد
قسم علوم الحياة / كلية العلوم/جامعة بغداد

Silva Antranik Zokian Mohamad Ban Jasim
Dept. of Biology /University of Baghdad/college of science

المستخلص

أجريت هذه الدراسه على الاجزاء الخضريه لنبات ذنب الخيل المحلي *Equisetum arvense L.* الذي ينمو طبيعيا في منطقة حاج عمران شمال العراق ، وقد تضمنت الدراسه متابعة تأثير المستخلصات الخام (المائي والكحولي) لنبات ذنب الخيل على بعض المعايير الدمويه داخل الجسم الحي *in vivo* وقد بينت نتائج الدراسه فعالية المستخلصات الخام (المائي والكحولي) لنبات ذنب الخيل في زيادة نسبة الخلايا اللمفيه داخل الجسم الحي وخصوصاعند تركيز(50 mg/ml) و لكلا المستخلصين ، كما اظهرت النتائج فعالية التراكيز الواطئه (10,50 mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي في زيادة اعداد كريات الدم الحمر داخل الجسم الحي ، اما التركيز (100mg/ml) فقد ادى الى تقليل اعداد كريات الدم الحمر . كماظهرت االنتائج فعالية التراكيز الواطئة (10,50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي في زيادة كمية خضاب الدم (الهيموغلوبين) داخل الجسم الحي ، غير ان التركيز (100mg/ml) عمل على خفض كمية خضاب الدم . واخيرا فقد اظهرت النتائج جودة التراكيز الواطئة (10,50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي في زيادة اعداد الصفيحات الدموية داخل الجسم الحي ، في حين ادى تركيز (100mg/ml) من المستخلصين الى تقليل واضح في اعداد الصفيحات الدموية.

Abstract

The present study has been performed on the vegetative parts of the local Horsetail *Equisetum arvense L.*, which grow naturally in Haj Umran in the north of Iraq, to assess the effect of crude extracts of this plant on some hematological parameters *in vivo*. The results revealed that the crude extracts (water and ethanolic), significantly, increase the lymphocyte level *in vivo* especially in concentration(50 mg/ml), the results also showed that the crude extracts (water and ethanolic) of (10, 50 mg/ml), significantly, increase the red blood corpuscles count *in vivo*, while higher concentration (100 mg/ml)has areverse effect(decrease the count), while the crude extracts (water and ethanolic)of (10 ,50 mg/ml), significantly, increase the amount of hemoglobin *in vivo*, where as higher concentration of(100mg/ml) decrease it. Finally, the low concentration of crude extracts(water and ethanolic) were efficient to increase platelet count *in vivo*, However, higher concentration of (100 mg/ml)decrease it.

المقدمة

يعتبر نبات ذنب الخيل *Equisetum arvense* L. الذي ينتمي لعائلة Equisetaceae من النباتات ذات الشهرة العالمية ، وهو واسع الانتشار في معظم دول العالم وينمو برياً في المنطقة الشمالية من العراق ويمتلك العديد من الاستطبابات ومنها : مضاد للبكتريا ، ومضاد للنزف ، ومضاد للسرطان ، ومضاد للحمى والالتهابات ، ومضاد للشيخوخة ، ولمعالجة امراض المفاصل ونخر العظام ، ومعالجة التهابات الكلى والمثانة وحصاتهما، والاستسقاء ، ومعالجة التضخم الحميد للبروستات [1،2] .

يحوي النبات عدد من المركبات الكيماوية ذات الاستخدامات الطبية والتي تعد احدى الاليات التي يستخدمها النبات ضد الاحياء المجهريه والحشرات ، اذ تقوم هذه المركبات بفعاليات مختلفه مثل تثبيط نمو الاحياء المجهريه وقتل الخلايا السرطانيه خارج وداخل الجسم الحي , ومن هذه المركبات الفينولات البسيطه وحامض الفينول وحامض الكافائيك وحامض السينامك والكوينون الفعال في وقف النزف بسبب سهولة اكسدته داخل الجسم ، والفلافونويدات التي لها قدره في القضاء على مدى واسع من الاحياء المجهريه ، والدباغيات ذات التأثير القابض والمحفز للخلايا المناعيه والبلعميه ضد الاورام Antitumor [3] ، كما ان النبات غني بمعادن السيليكا والبوتاسيوم والكالسيوم والحديد [2] .

ونظراً لقلة البحوث والدراسات العلمية في القطر عن هذا النبات اجريت الدراسة الحالية للتعرف على تأثير المستخلصين المائي والكحولي لنبات ذنب الخيل المحلي على عدد الخلايا اللمفيه وعدد كريات الدم الحمر وكمية خضاب الدم وعدد الصفيحات الدمويه داخل الجسم الحي.

المواد وطرائق العمل

جمعت نباتات ذنب الخيل *E. arvense* من منطقة حاج عمران التابعة لمقاطعة راوندوز خلال السفرات الحقلية بين شهري آيار وحزيران للعام 2008 ، وحفظت بحسب طريقة [2] .

تحضير المستخلص المائي و المستخلص الكحولي

وزن (50) غم من المسحوق النباتي ، واضيف اليه (500) مل من الماء المقطر بدرجة الغليان وترك ليبرد مع التحريك المستمر، ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش ، ثم ورق الترشيح Whatman No. 2 ، واخذ الراشح وبخر بجهاز المبخر الدوار Rotary evaporator بدرجة حرارة (60) م لحين الحصول على سائل كثيف ، بعدها جفف السائل في حاضنة بدرجة 37 م خلال (3-2) ايام حتى تكون المسحوق المجفف ، ثم جمع المسحوق وحفظ في قنينة زجاجية نظيفة ومعقمة ووضع في الثلاجة بدرجة (4) م لحين الاستخدام .

اتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي نفسها ما عدا استخدام (250) مل من الكحول الاثيلي 80% بدلاً من الماء المقطر .

التراكيز المستخدمة في التجربة

حضرمحلول خزين Stock solution من المستخلص النباتي وذلك باذابة (20) غم من المستخلص المجفف في 100مل من الماء المقطر المعقم ، ورشح المحلول باستعمال ورق Whatman membrane filter 4.5*Mm* وحضرت منه التراكيزالاتية (100,50,10) ملغم / مل حسب المعادلة :

التركيز الاول × الحجم الاول = التركيز الثاني × الحجم الثاني

فحوصات الدم داخل الجسم الحي *In vivo* Haematological Tests

استخدم (21) فأراً مختبريا من نوع Albino_Balb/C-mice من الذكور، وكانت اوزانهم (25±5) غم ، بعمر شهرين تقريبا ، قسمت عشوائيا على ثلاث مجموعات . تضم المجموعتين الاولى والثانية (9) فئرأن ، اما المجموعة الثالثة فتتكون من (3) فئران بوصفها سيطرة . وضعت الفئران في اقفاص مختبرية نظيفة في البيت الحيواني لقسم الحياة في كلية العلوم - جامعة بغداد عند درجة حرارة (30±2) م ، وجهزت الفئران بعليقة غذائية خاصة وماء بكميات تضمن الحاجة .

رُقمت المجموعة الاولى من الفئران ، ثم جُرعت بتراكيز متدرجة من المستخلص المائي للنبات (100,50,10) ملغم / مل ، بحجم (0,04) مل ، مرة واحدة خلال اليوم وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز، لمدة ثلاثة ايام .

المجموعة الثانية رقمت وجرعت بتراكيز متدرجة من المستخلص الكحولي للنبات بالطريقة نفسها اعلاه

اما المجموعة الثالثة (السيطرة) فقد جرعت بمحلول الملح الفسيولوجي Normal Saline .

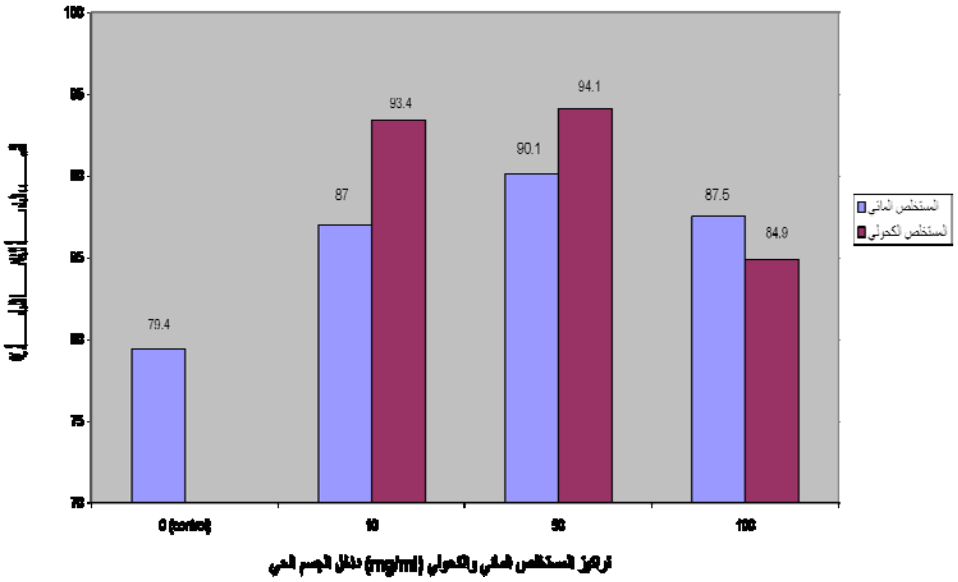
جمع عينات الدم Blood collection

جمعت عينات الدم بعد ذبح الحيوانات المختبرية في انابيب تحتوي على مانع تخثر($EDTAK^{+}$) لغرض حساب عدد الخلايا اللمفيه وعدد الصفيحات الدموية وعدد كريات الدم الحمر وكمية الهيموغلوبين ، وقد تم قياس المعايير اعلاه في مستشفى الكاظميه التعليمي باستخدام جهاز (MS9_SysmeHematologyAnalysis) ياباني المنشأ .

النتائج والمناقشة

1.قياس نسبة الخلايا اللمفيه

اظهرت نتائج قياس مستوى الخلايا اللمفيه حدوث ارتفاع واضح في نسبة هذه الخلايا عند تركيز (10mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي لنبات ذنب الخيل, فكانت النسب (87 ،93.4)% على التوالي مقارنة بمجموعة السيطره 79.4% واستمرت النسبه بالارتفاع ولكلا المستخلصين عند تركيز (50mg/ml) فكانت (90.1 ، 94.1) % مقارنة بمجموعة السيطرة , اما تركيز (100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فقد سجل هو الاخر ارتفاعا في نسبة الخلايا اللمفيه فكان(87.5، 84.9)% على التوالي مقارنة بمجموعة السيطره ولكنه كان اقل تأثيرا من التركيزين السابقين شكل (1) .

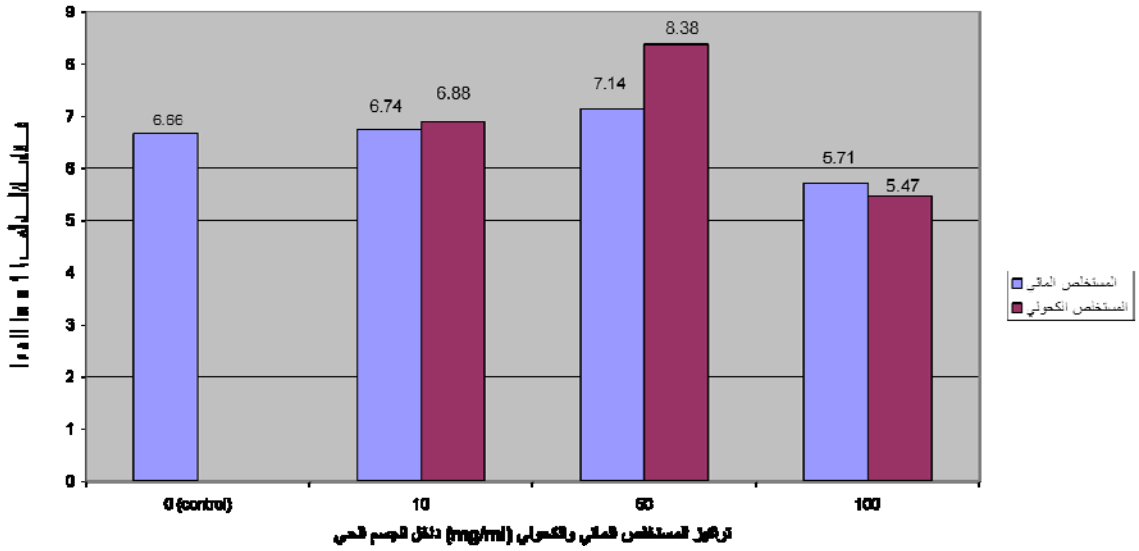


شكل (1) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل المحلي وعدد الخلايا اللمفية داخل الجسم الحي

ان سبب حدوث هذا الارتفاع في نسبة الخلايا اللمفيه ربما يعود لقابلية النبات على تحفيز الزيادة في انتاج الخلايا اللمفيه نوع -T- والخلايا البلعميه خصوصا عندالتراكيز الواطئه من المستخلص النباتي , وذلك لاحتواءه على بعض المواد كالدباغياتTannis ذات التأثير المحفز لأنتاج تلك الخلايا [3،4] .

2.قياس عدد كريات الدم الحمر Red Blood Corpuscles :

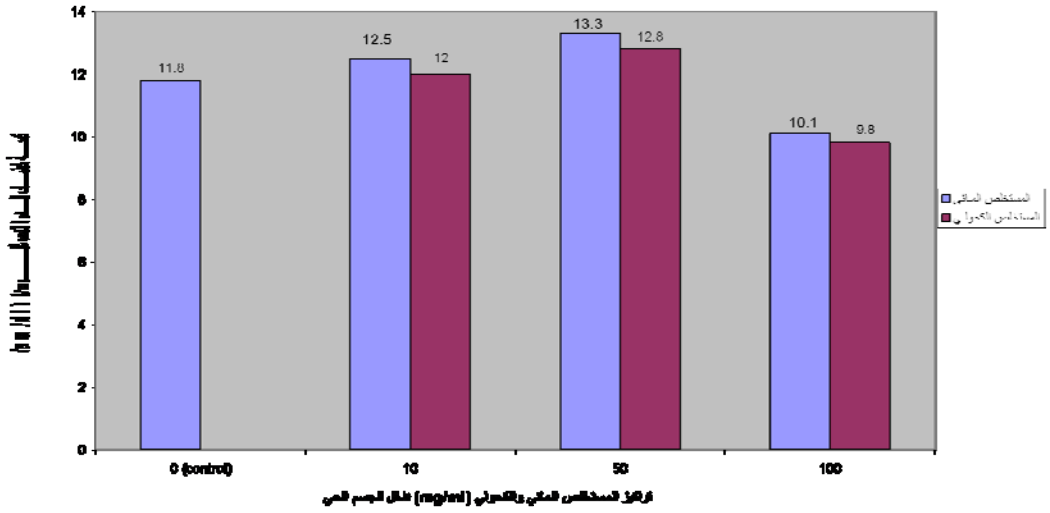
أظهرت النتائج وجود فروق واضحة بين مجموعة السيطرة ومجاميع الاختبار المجرّعة بكلا النوعين من المستخلص (المائي والكحولي) لنبات ذنب الخيل , أذ وصل تعداد الكريات الحمر عند تركيز(10mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي الى ($6.74x10^6cell/mm^3$) و($6.88x10^6cell/mm^3$) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة($6.66x10^6cell/mm^3$) , فيما كان تعدادها عند تركيز(50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي ($7.14\times10^6cell/mm^3$)، ($8.38x10^6cell/mm^3$)على التوالي , اما تركيز(100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فقد سجل انخفاضا في عدد الكريات الحمرمقارنة بمجموعة السيطرة فكان($5.71x10^6cell/mm^3$)، ($5.47x10^6cell/mm^3$) على التوالي شكل (2) .



شكل (2) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل المحلي وعدد كريات الدم الحمر داخل الجسم الحي

3.قياس كمية خضاب الدم :Hemoglobin

اظهرت النتائج وجود فروق في مستوى خضاب الدم بين مجاميع الاختبار ومجموعة السيطرة ولكلا المستخلصين , فعند تركيز (10mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي كانت كمية خضاب الدم (12.5gm/dl) ،(12gm/dl) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (11.8gm/dl) , فيما بلغ مستوى خضاب الدم عند تركيز (50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي(12.8gm/dl) ،(13.3gm/dl) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة , اما تركيز(100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فقد سجل انخفاضا في كمية خضاب الدم مقارنة بمجموعة السيطرة فكان(10.1×10gm/dl) ،(9.8gm/dl) على التوالي شكل (3) .

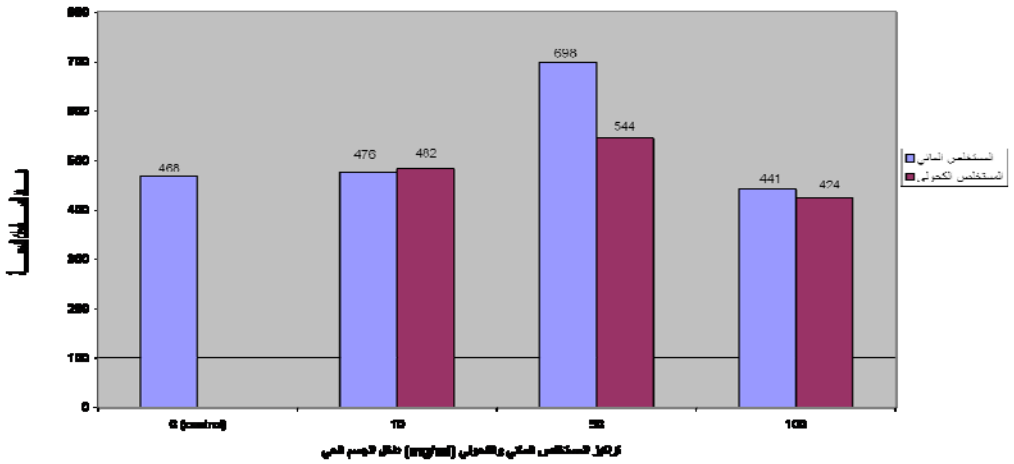


شكل (3) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل المحلي وكمية خضاب الدم (الهيموغلوبين) داخل الجسم الحي

تبين النتائج اعلاه حصول ارتفاع في عدد الكريات الحمر وكمية خضاب الدم عند التراكيز الواطئه من المستخلص النباتي وهذا قد يعود الى ان مستخلص نبات ذنب الخيل يحوي نسبه عاليه من عنصر الحديد وفيتامين C وpectic acid وgallic acid الذين يدخلون في تركيب المعاييراعلاه , مايؤدي الى زيادة انتاجها ومستواه [6،5] اما التراكيز العاليه فتؤدي الى حدوث نزيف وبالتالي انخفاض في مستوى الكريات الحمروكمية خضاب الدم [7،2] .

4.قياس عدد الصفيحات الدموية Platelets

أظهرت النتائج وجود اختلاف في عدد الصفيحات الدموية بين مجاميع الاختبار المجرّعة بكلا النوعين من المستخلص ومجموعة السيطرة ، فعند تركيز (10mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي كان عدد الصفيحات الدموية($476x10^3cell/mm^3$) ، ($482x10^3cell/mm^3$) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة ($468x10^3cell/mm^3$) بينما كان عددها عند تركيز(50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي ($698x10^3cell/mm3$) ، ($544x10^3cell/mm^3$) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة , اما عند تركيز (100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فكان عددها ($441x10^3cell/mm^3$) ، ($424x10^3cell/mm^3$) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطره . شكل (4) .



شكل (4) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل المحلي وعدد الصفيحات الدموية داخل الجسم الحي

تبين النتائج اعلاه حدوث ارتفاع في عدد الصفيحات الدمويه عند التراكيز القليله من المستخلص النباتي والسبب هو احتواءالنبات على gallic acid و pectic acid اللذين يلعبان دورا في زيادة عدد الصفيحات الدمويه [9،8] , الا ان التراكيز العاليه من المستخلص تؤدي الى انخفاض في عدد الصفيحات الدمويه وحدوث نزيف والسبب هو احتواء النبات على فيتامين C الذي اذا أخذ بكميات كبيره يقلل من خثرة الدم ويزيد من سيولته [10،2] , وقد اكد [9] هذه الحقيقه حيث بين في دراسته ان هناك تراكيز معينه من مستخلص نبات الخيل تعمل على منع تجمع الصفيحات الدمويه عن طريق تثبيط تكوين الثرومبين والثرومبوبلاستين في الدم بسبب وجود مركبات البولي فينول polyphenols في النبات .

المصادر

1. Kahly A.,;Eric Y.,(2008).Alternative and complementary the rabies.14(2);69-77.
2. Zokian,silva,a.(2006).Study the medical active compounds of local *E.arvense L.* and the effect of its extracts upon some pathological microbes.
3. Agustin ,M.P.;Martinez, C.;Alonso, A.,;Robeledo, T.,;Lombardero, M.,Dominguez, J., and Carballo,MA. (2004).Diagnostic approach to anaphylaxis by carrot,related vegetables and Horsetail in a hoemaker allergy,59(7):786-787.(EBSCO2005).
4. Dos Santos JG Jr, Blanco MM, Do Monte FH, et al. Sedative and anticonvulsant effects of hydroalcoholic extract of Equisetum arvense. Fitoterapia. 2005; 76(6):508-513.
5. Terri Mitchell,LE Magazine,WIKIMEDIA foundation,(2008).
6. SantosJ.; Domounte,F;Blanco,M.,Nascimento,B.andDealmeida,L.(2005).Cognitive enhancement in aged rats after chronic admenstration of *E.arvense L.* with

demonstrated antioxidant properties in vitro.pharm.biochem.(available online,2005).

7. Haughton C. Equisetum arvense (L). Revised September 23, 2002. Available at:: http://www.purplesage.org.uk/profiles/horsetail.htm. Accessed June 6, 2003
8. Do Monte FH, dos Santos JG Jr, Russi M, Lanziotti VM, Leal LK, Cunha GM. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic extract of stems from Equisetum arvense L. in mice. Pharmacology Research. 2004; 49(3):239-243.
9. Mekhfi, H. ; El-Haouari, M. ; Legssyar, A. ; Bnouhan, M.;Aziz, M. ; Atmani, F. ; Remmal, A.;and Ziyat, A.(2004). Platlet anti- aggregant property of some Moroccan medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. 94(2-3): 317- 322. [EBSCO 2005]
10. Grieve M. Horsetails. In: A Modern Herbal. New York: Dover Publishers, 1971. Available at: http://www.botanical.com/botanical/mgmh/mgmh.html Posted 1995. Accessed June 6, 2003.