

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

بان جاسم محمد

سيلفا انترانيك زوكيان

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 الدراسة على الاجزاء الخضريه لنبات ذنب الخيل المحلي *Equisetum arvense* L. الذي ينمو طبيعيا في منطقة حاج عمران شمال العراق ، وقد تضمنت الدراسة متابعة تأثير المستخلصات الخام (المائي والكحولي) لنبات ذنب الخيل على بعض المعايير الدموية داخل الجسم الحي *in vivo* وقد بينت نتائج الدراسة فعالية المستخلصات الخام (المائي والكحولي) لنبات ذنب الخيل في زيادة نسبة الخلايا اللمفية داخل الجسم الحي وخصوصا عند تركيز (50 mg/ml) و لكلا المستخلصين ، كما اظهرت النتائج فعالية التراكيز الواطنه (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 النتائج فعالية التراكيز الواطنه (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 الواطنه (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 a reverse 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 للزف ، ومضاد للسرطان ، ومضاد للحمى والالتهابات ، ومضاد

للشيخوخة ، ولمعالجة امراض المفاصل ونخر العظام ، ومعالجة التهابات الكلى والمثانة وحصاتها، والاستسقاء ، ومعالجة التضخم الحميد للبروستات [2،1] .

يحوي النبات عدد من المركبات الكيماوية ذات الاستخدامات الطبية والتي تعد احدى الاليات التي يستخدمها النبات ضد الاحياء المجهرية والحشرات ، اذ تقوم هذه المركبات بفعاليات مختلفه مثل تثبيط نمو الاحياء المجهرية وقتل الخلايا السرطانية خارج وداخل الجسم الحي ، ومن هذه المركبات الفينولات البسيطة وحامض الفينول وحامض الكافاينيك وحامض السيناميك والكوبونون الفعال في وقف النزف بسبب سهولة اكسدته داخل الجسم ، والفلافونويدات التي لها قدره في القضاء على مدى واسع من الاحياء المجهرية ، والدباغيات ذات التأثير القابض والمحفز للخلايا المناعية والبلعمية ضد الاورام Antitumor [3] ، كما ان النبات غني بمعادن السيليكا واليوتاسيوم والكالسيوم والحديد [2] .

ونظراً لقلة البحوث والدراسات العلمية في القطر عن هذا النبات اجريت الدراسة الحالية للتعرف على تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات ذنب الخيل المحلي على عدد الخلايا اللمفيه وعدد كريات الدم الحمر وكمية خضاب الدم وعدد الصفيحات الدموية 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 (2-3) 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 الايثيلي 80% بدلاً من الماء المقطر .

التركيز المستخدمة في التجربة

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

$$\text{التركيز الاول} \times \text{الحجم الاول} = \text{التركيز الثاني} \times \text{الحجم الثاني}$$

فحوصات الدم داخل الجسم الحي Haematological Tests In vivo

استخدم (21) فأراً مختبرياً من نوع Albino_Balb/C-mice من الذكور، وكانت اوزانهم (25±5) غم ، بعمر شهرين تقريباً ، قسمت عشوائياً على ثلاث مجموعات . تضم المجموعتين الاولى والثانية (9) فئران ، 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 بتركيز متدرجة من المستخلص المائي للنبات (10,50,100) ملغم / مل ، بحجم (0,04) مل ، مرة واحدة خلال اليوم وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز، لمدة ثلاثة ايام . المجموعة الثانية رُقمت وجرت بتركيز متدرجة من المستخلص الكحولي للنبات بالطريقة نفسها اعلاه اما المجموعة الثالثة (السيطرة) فقد جرعت بمحلول الملح الفسيولوجي Normal Saline .

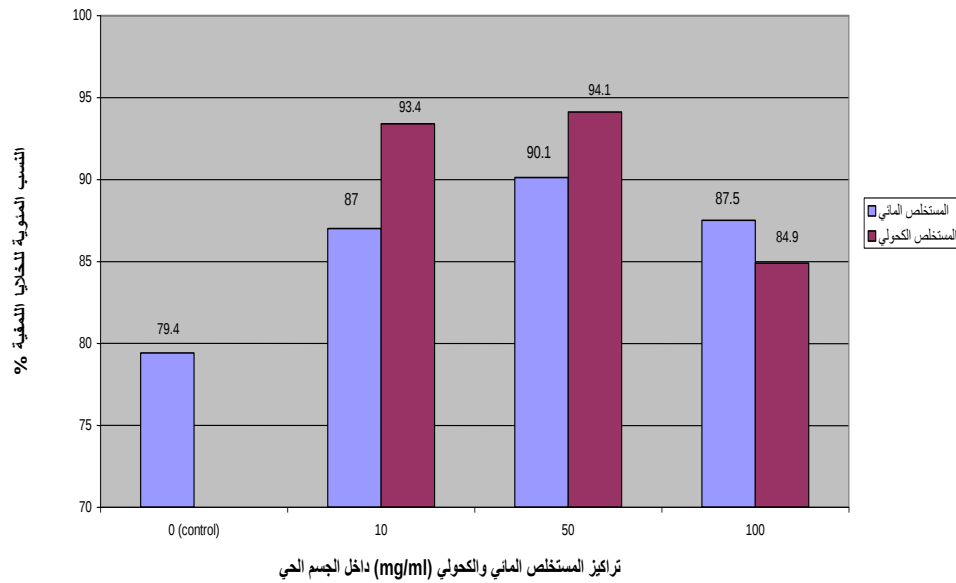
جمع عينات الدم Blood collection

جمعت عينات الدم بعد ذبح الحيوانات المختبرية في انابيب تحتوي على مانع تخثر (EDTA⁺) 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 اللمفية

أظهرت نتائج قياس مستوى الخلايا اللمفية 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 السيطرة 79.4% واستمرت النسبة بالارتفاع ولكلا المستخلصين عند تركيز (50mg/ml) فكانت (90.1، 94.1)% مقارنة بمجموعة السيطرة، أما تركيز (100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فقد سجل هو الآخر ارتفاعا في نسبة الخلايا اللمفية فكان (84.9، 87.5)% على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة ولكنه كان أقل تأثيرا من التركيزين السابقين شكل (1).

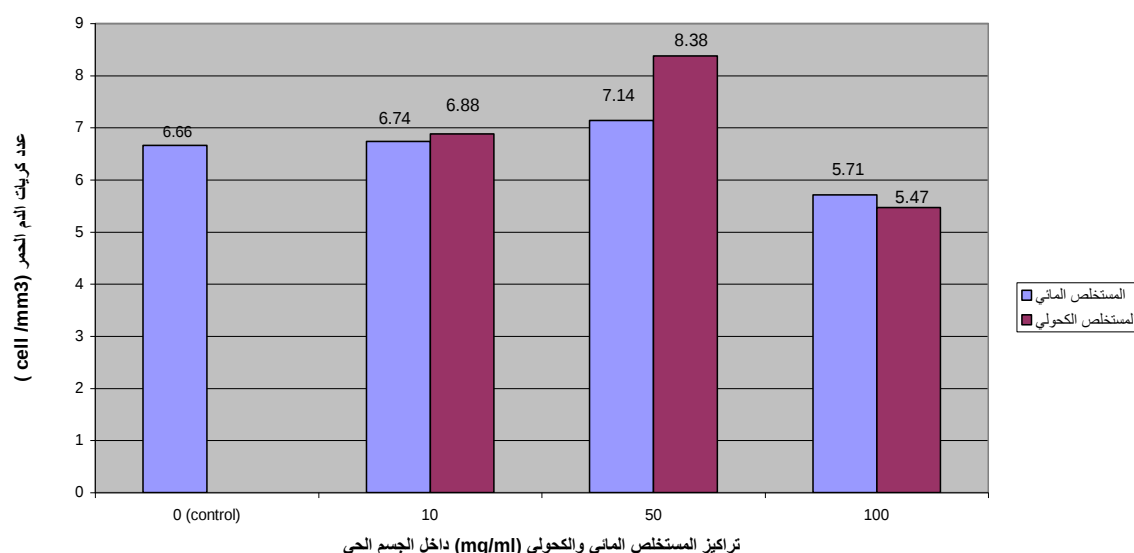


شكل (1) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذنب الخيل المحلي وعدد الخلايا اللمفية داخل الجسم الحي

ان سبب حدوث هذا الارتفاع في نسبة الخلايا اللمفية ربما يعود لقابلية النبات على تحفيز الزيادة في انتاج الخلايا اللمفية نوع T- والخلايا البلعمية خصوصا عند التراكيز الواطئة من المستخلص النباتي، وذلك لاحتواءه على بعض المواد كالدباغيات Tannis ذات التأثير المحفز لأنتاج تلك الخلايا [4،3].

2. قياس عدد كريات الدم الحمراء Red Blood Corpuscles :

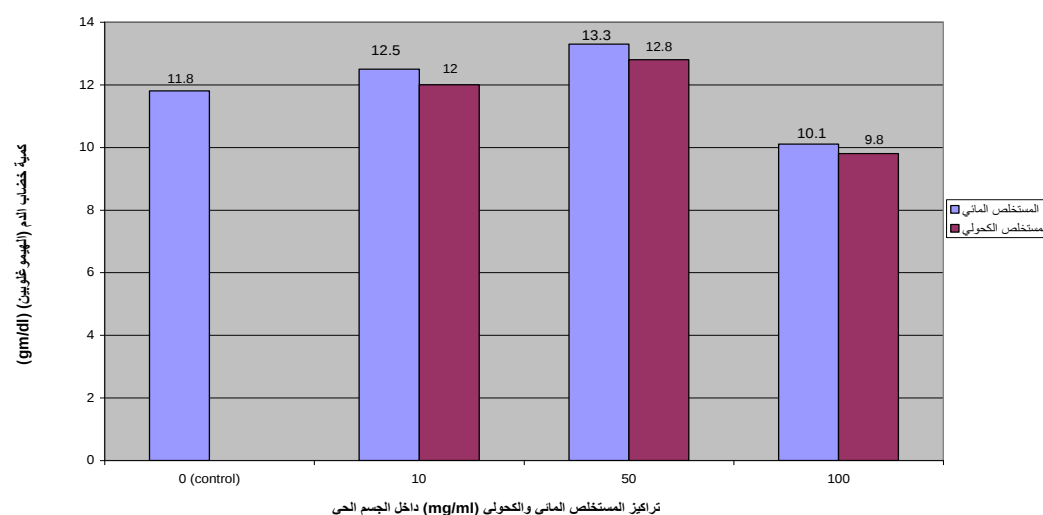
أظهرت النتائج وجود فروق واضحة بين مجموعة السيطرة ومجاميع الاختبار المجزعة بكلا النوعين من المستخلص (المائي والكحولي) لنبات ذنب الخيل، وأوصل تعداد الكريات الحمر عند تركيز (10mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي إلى $(6.74 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ و $(6.88 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة $(6.66 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ ، فيما كان تعدادها عند تركيز (50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي $(7.14 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ ، $(8.38 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ على التوالي، أما تركيز (100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فقد سجل انخفاضا في عدد الكريات الحمر مقارنة بمجموعة السيطرة فكان $(5.71 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ ، $(5.47 \times 10^6 \text{ cell/mm}^3)$ على التوالي شكل (2).



شكل (2) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذئب الخيل المحلي وعدد كريات الدم الحمراء 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 انخفاضاً في كمية خضاب الدم مقارنة بمجموعة السيطرة فكان (10.1×10gm/dl) ، (9.8gm/dl) على التوالي شكل (3) .

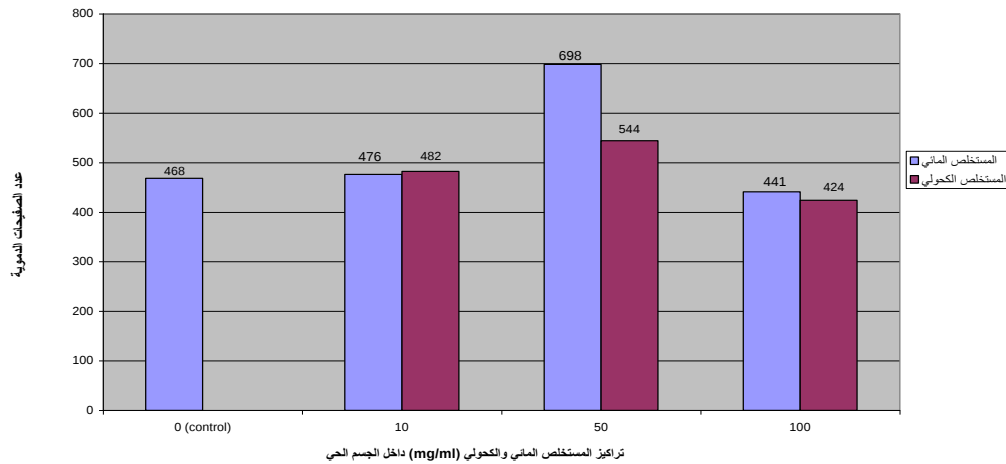


شكل (3) : العلاقة بين التراكيز المتدرجة للمستخلصات الخام لنبات ذئب الخيل المحلي وكمية خضاب الدم (الهيموغلوبين) داخل الجسم الحي

تبين النتائج اعلاه حصول ارتفاع في عدد الكريات الحمراء وكمية خضاب الدم عند التراكيز الواطئة من المستخلص النباتي وهذا قد يعود الى ان مستخلص نبات ذئب الخيل يحوي نسبة عالية من عنصر الحديد وفيتامين C و gallic acid و pectic acid الذين يدخلون في تركيب المعايير اعلاه , مما يؤدي الى زيادة انتاجها ومستواه [6،5] اما التراكيز العاليه فتؤدي الى حدوث نزيف وبالتالي انخفاض في مستوى الكريات الحمراء وكمية خضاب الدم [7،2] .

4. قياس عدد الصفائح الدموية Platelets

أظهرت النتائج وجود اختلاف في عدد الصفائح الدموية بين مجاميع الاختبار المجزعة بكلا النوعين من المستخلص ومجموعة السيطرة ، فعند تركيز (10mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي كان عدد الصفائح الدموية (476x10³cell/mm³) ، (482x10³cell/mm³) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (468x10³cell/mm³) بينما كان عددها عند تركيز (50mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي (698x10³cell/mm³) ، (544x10³cell/mm³) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة ، اما عند تركيز (100mg/ml) من المستخلصين المائي والكحولي فكان عددها (441x10³cell/mm³) ، (424x10³cell/mm³) على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة . شكل (4) .



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

تبين النتائج اعلاه حدوث ارتفاع في عدد الصفائح الدموية عند التراكيز القليلة من المستخلص النباتي والسبب هو احتواء النبات على gallic acid و pectic acid اللذين يلعبان دورا في زيادة عدد الصفائح الدموية [9,8] , الا ان التراكيز العاليه من المستخلص تؤدي الى انخفاض في عدد الصفائح الدموية 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 الصفائح الدموية عن طريق تثبيط تكوين الثرومبين والثرومبولاستين 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.