Effect of ethanol extract of leave *Vinca rosea* plant on some physiological parameter in males albino rat induct diabetes

تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات عين البزون على بعض معايير الدم الوظيفية لذكور الجرذ الأبيض المستحدث به داء السكري .

ضحى قاسم عليوي * حسين علي عبد اللطيف
جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

الخلاصة :

تم استخدام ذكور الجرذ الأبيض عددها (75) ذكر وقسمت عشوائيا الى خمسة مجاميع (كل مجموعة تحتوي على 15حيوان) , المجموعة الأولى G1 مجموعة السيطرة وجرعت يوميا بمحلول الملح الفسيولوجي ولمدة شهرين وعدت مجموعة سيطرة سالبة ، المجموعة الثانية G2 تم استحداث داء السكري بحقنها بالالوكسان Alloxan وبجرعة 150 ملغم/ كغم من وزن الجسم تحت البريتون وعدت مجموعة سيطرة موجبة ، والمجموعة الثالثة G3 تم استحداث داء السكري بها بحقنها بالالوكسان Alloxan وجرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داء السكري بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون وبجرعة مقدارها 150 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولكل يوم ولمدة شهر ، والمجموعة الرابعة G4 تم استحداث داء السكري بها بحقنها بالالوكسان Alloxan وجرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داء السكري بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون وبجرعة مقدارها 200 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولكل يوم ولمدة شهر ،والمجموعة الخامسة G5 تم استحداث داء السكري بها بحقنها بالالوكسان Alloxan وجرعت فمويا بعد مرور شهر من استحداث داء السكري بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون وبجرعة مقدارها 250 ملغم/ كغم من وزن الجسم ولكل يوم ولمدة شهر .

جمعت عينات الدم من كل المجاميع قبل استحداث داء السكري وبعد شهر من استحداث داء السكري وبعد شهر من التجريع بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون لدراسة المعايير التالية : قياس مستوى الهيموكلوبين في الدم Hemoglobin (Hb)، قياس عدد كريات الدم الحمر Red blood cells count (R.B.C) ، قياس العدد الكلي لخلايا الدم البيض White blood cells count (W.B.C) ، قياس حجم خلايا الدم المرصوصة Packed Cell Volum (PCV) ، أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان استحداث داء السكري في ذكور الجرذ الابيض أدى إلى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى الهيموكلوبين Hb ،وعدد كريات الدم الحمر R.B.C ، ومستوى حجم خلايا الدم المرصوصة PCV وارتفاع معنوي ($P<0.05$) في عدد كريات الدم البيض W.B.C مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة. وحصول ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى Hb وعدد R.B.C ومستوى PCV وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في عدد W.B.C في المجاميع المعاملة بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون مقارنة بمجموعة السيطرة المصابة .

Abstract :

Seventy five white male rats were used in the present study , these animals randomly divided into five groups (15 rat for each) , first group G1 was recive physiological saline daily for two months , while animal of the second group G2 had induced diabetes mellitus by intraperitoneal injection of 150 mg/kg/Bw of alloxan and considered as control positive group . Animal of third group were subjected to same protocole used in G2 in addition to that they were treated with 150 mg/kg/Bw of ethanolic extract of *Vinca rosea* after month of induction of diabetes mellitus for 30 days. Animals of fourth G4 and fifth G5 groups were apllied to the same treatment that used in the animals of G3 except that the dose of *Vinca rosea* were 200 and 250 mg/kg/Bw respectivly. Blood samples were collected from all groups of experiment before the induction of diabetes , a month after the induction of diabetes , and after a month of dosing ethanol extract of *Vinca rosea* ,the study of parameters which included, measurement Blood Hemoglobin(Hb) , Red blood cells count (R.B.C) , White blood cells count (W.B.C.), and Packed cell volum (PCV),the results of present study showed a significant decrease ($p<0.05$) in Hb levels, R.B.C count and PCV level and significant increase ($p<0.05$) in W.B.C count in all diabetes group compared with intact control group . There a significant increase ($p<0.05$) in the Hb level, R.B.C count and PCV level, and significant decrease ($p<0.05$) in the W.B.C count in treatment with ethanol leaves *Vinca rosea* compared to the infected control group.

المقدمة :

داء السكري Diabetes mellitus هو الاضطرابات الغذائية الشائعة غير المتجانسة متعددة الاسباب تؤدي الى زيادة مستوى الكلوكوز في الدم Hyperglycemia عن المعدل الطبيعي نتيجة لبقائه في الدم لنقص أو إنعدام إفراز هرمون الأنسولين من خلايا بيتا في البنكرياس أو ضعف آلية عمله أو كليهما معاً أو خلل في مستقبلات الأنسولين نتيجة اضطرابات وراثية اوبيئية (1) . ويعود سبب الزيادة في مستوى سكر الدم الى اضطراب في ايض الكلوكوز فلا يتحول الى كلايكوجين او لا يتأكسد الى CO2 بالسرعة الطبيعية ، وبما ان الكلوكوز لا يستهلك فانه يتجمع ولاسيما بعد وجبات الغذاء الغنية بالكاربوهيدرات (2). علماً أن هرمون الانسولين الذي تفرزه غدة البنكرياس ذو تاثير فعال على اكسدة الكلوكوز إذ أن الانسولين يحفز على زيادة نقل الكلوكوز في الدم الى العضلات الهيكلية والكبد ويسرع في إستعمال الكلوكوز لتكوين الكلايكوجين والدهون ، يؤدي نقصان افراز هرمون الانسولين من البنكرياس الى ارتفاع مستوى الكلوكوز في الدم ثم حصول داء السكري (3). وتكلف الادوية التجارية مبالغ كبيرة في استيرادها فضلا عن ان استعمالها المستمر في العلاج يفقدها فعاليتها تدريجيا بسبب مقاومة خلايا الجسم لها ,لذا اولت الكثير من دول العالم اهتماما كبيرا بنباتاتها باعتبارها المصدر الطبيعي للادوية (4). وتعد النباتات الطبية دواءً طبيعيا وعلاجا مأمون المخاطر, إلا أنه معقد لأنه يحتوي على عدة مكونات فعالة تعمل في أجهزة الجسم المختلفة, وتبقى النباتات الطبيعية البديل الدوائي المناسب عن الأدوية الكيميائية والتي تنتج عنها مضاعفات وأثار جانبية شديدة , ومن الجدير بالذكر أن لداء السكري نصيبا كبيرا في توجه الباحثين لاستخدام النباتات في هذا المرض، إذ استخدمت النباتات بمختلف الأشكال والمستخلصات، واكتشف العديد منها، والذي له دور كبير في السيطرة على داء السكري (5). وقد اختير في هذه الدراسة اوراق نبات عين البزون *Vinca rosea* التي تتميز بخصائص وفوائد عدة منها: الحدّ من أمراض القلب و مضادات مانعة للتخثر ومسكنة للالام وقدرتها على تخفيض داء السكري وزيادة كفاءة الجهاز المناعي وهي تمتلك تاثيرا قاتلا ومثبطا لنمو انواع متعددة من الخلايا السرطانية وكذلك بسبب المحتوى الواطئ من المواد القلويدية فيه اصبح هذا النبات مهما من الناحية الطبية (6). لذا استهدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات عين البزون على بعض المعايير الوظيفية لذكور الجرذ الأبيض المستحدث بها داء السكري .

المواد وطرق العمل :

استخدمت في هذه الدراسة 75 من ذكور الجرذ الابيض يتراوح معدل أوزانها مابين 150- 200 غرام وتراوحت أعمارها بين (10-12) اسبوع وضعت في البيت الحيواني التابع لكلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء, وتم توفير الماء وغذاء مكون من العليقة الحيوانية أعطي بصورة حرة *ad libitum* تحت ظروف تهوية مناسبة وبدرجة حرارة 25مº .

بعد أن منعت الجرذان من الأكل لمدة 24 ساعة تم وزنها وحقنها بمادة الالوكسان Alloxan المستحصل عليها من شركة (Afco,India) بتركيز 150ملغم/مل من محلول الملح الفسلجي وقد تم تحضيره عند الحقن وبجرعة 150 ملغم/مل من وزن الجسم (7) . واستخدمت محقنة طبية نبيذة سعة 1 مل لحقن الجرذان عبر التجويف البريتوني ، وقد أعطي لها بعد الحقن في اليوم الأول محلول كلوكوز بتركيز 5% مع ماء الشرب لمنع حدوث نقص السكر الحاد الناتج من تلف البنكرياس الذي قد يؤدي إلى هلاكها. ثم سمح للحيوانات بتناول العلف بعد الحقن وتم التأكد من استحداث داء السكري في الجرذان المعاملة بالالوكسان ،حيث تم سحب الدم من الوريد الموجود في ذيل الحيوان للتأكد من حصول الاصابة بالمرض بعد تصويمها ، وذلك بفحص الدم والتأكد من وجود سكر الكلوكوز فيه عن طريق استخدام الشريط الكاشف لسكر الدم Blood Glucose Test Strips المصنع من شركة (ACON Laboratories. Inc. USA) ,كذلك بفحص البول والتأكد من وجود سكر الكلوكوز فيه وذلك عن طريق استخدام الشريط الكاشف Glukotest مرة كل ثلاثة أيام ولمدة ثلاثين يوماً، إذ إن بعض الحيوانات المستحدث فيها داء السُكري قد تعود إلى حالتها الطبيعية بسبب قيام خلايا بيتا-البنكرياسية غير المتضررة بإفراز الأنسولين بشكل يعوض عن الخلايا الأخرى (8) .ان الحيوانات التي لديها تركيز كلوكوز أعلى من 200 ملغم / ديسلتر عدت مصابة بداء السكري (9) .

تم تحضير المستخلص الكحولي للنبات عن طريق طحن اوراق النبات باستعمال طاحونة, وبعدها غربلت الأجزاء المطحونة من خلال غربيل مساحة ثقوبه 2 ملم^2 جمع المسحوق وترك عند درجة حرارة 45ْم لمدة 72 ساعة, وزن 20 غم من المسحوق الجاف ووضع في جهاز السوكسوليت لبدء عملية الاستخلاص باستخدام 400 مل من الكحول الايثانولي المطلق 99.9 % كمذيب(للحصول على المستخلص الكحولي),وبذلك تصبح نسبة المسحوق الجاف إلى المذيب 1: 20,واستمرت عملية الاستخلاص لمدة 24 ساعة للدفعة الواحدة . بعدها وضع المستخلص الناتج في أطباق بتري زجاجية نظيفة ومعقمة ومغلفة من الداخل بأكياس نايلون نظيفة ووضعت في الحاضنة عند درجة حرارة 45°م وتركت لتجف لمدة 24 ساعة,تم أخذ المستخلص الجاف بسهولة بواسطة نزع الكيس من الطبق ومن ثم حفظ بعد إن وزن في أوعية بلاستيكية نظيفة و محكمة الغلق لحين الاستعمال (10) .

بعد فرض الصيام على الحيوانات لمدة 12 ساعة وُزنت وخُدرت بالايثر و جمعت عينات الدم 7 مل لكل حيوان من القلب مباشرة بطريقة طعنة القلب Cardiac Puncture لمرتين متتاليتين . سحبت نماذج دم منها باستخدام محاقن طبية نبيذه سعة 5 مل في فترة ماقبل المعاملة pretreated وبعد شهر من استحداث داء السكري وشهر من التجريع بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون . وضع 2 مل منه في أنابيب حاوية على مانع التخثر Potassium EDTA لغرض قياس المعايير الدمية , حيث تم قياس الهيموكلوبين بقسمة حجم خلايا الدم المضغوطة على3.3 بوصف إن الهيموكلوبين يمثل 3/1 حجم كريات الدم الحمراء (11) . كما تم قياس عدد كريات الدم الحمر عن طريق تخفيف الدم بمحلول Formal citrate المتكون من 1 % فورمالين في 38 غم /لتر من ثلاثي سترات الصوديوم Tri- sodium citrate ويتم ذلك بإضافة 20 مايكروليتر من الدم إلى 0.4 سم^3 من محلول Formal citrate ثم يحرك الدم المخفف بتحريك الأنبوب تحريك ميكانيكي , بعد ذلك يملأ جهاز العد counting chamber بالدم المخفف باستخدام Pasteur pipette ثم يفحص بالعدسة العينية تحت القوة 40x و10x باستخدام المجهر الضوئي (12). كما تم

حساب العدد الكلي لخلايا الدم البيض وكذلك باستخدام شريحة عد الكريات Haemocytometer من نوع Improved neubauer حسب ما ورد في (12) .

وكذلك تم قياس قيم مكداس الدم حيث تم في هذا الفحص استخدام انابيب شعرية زجاجية رفيعة مفتوحة الطرفين Capillary tube باستخدام جهاز تنبيذ الهيماتوكرايت Hematocrit Centrifuge وبسرعة 3000 دورة / دقيقة ، وباستخدام مادة EDTA المضادة للتخثر ، حيث تم قياس النسبة المئوية لحجم خلايا الدم المرصوصة بوضع الانابيب الشعرية في المقياس المسمى Hematocrit scale او Hematocrit reader الخاص بالجهاز (13) .

إجري التحليل الاحصائي باستخدام تحليل التباين لتجربة عاملية 5 ×3 ×5 مكررات وفق التصميم العشوائي الكامل لدراسة تأثير المعاملة بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون والمدة الزمنية في المعايير المدروسة واختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المعدل (.L.S.D) Revised LeastSignificant Differences (14).

النتائج والمناقشة :

تشير نتائج الجدول (1) بان استحداث داء السكري التجريبي في حيوانات التجربة قد ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى هيموكلوبين الدم مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة التي لم تحقن بالالوكسان وتبين ان معاملة الحيوانات المصابة بداء السكري بالمستخلص الكحولي لأوراق نبات عين البزون وبجرع 150 ,200 ,250 ملغم/كغم وبمعدل مرة واحدة في اليوم ولمدة شهر سببت ارتفاعا معنويا ($P<0.05$) في مستوى هيموكلوبين الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة .كما بين الجدول ان لفترة التجريع تاثير معنوي ($P<0.05$) في تركيز هيموكلوبين الدم لذكور الجرذ الابيض حيث كان الارتفاع معنوي ($P<0.05$) بعد شهر من التجريع بالمستخلص الكحولي لأوراق عين البزون مقارنة مع بعد شهر من استحداث داء السكري.

جدول (1) تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات عين البزون على مستوى الهيموكلوبين mg/dl في دم ذكور الجرذ الابيض المستحدث بها داء السكري.

المعاملة / المدة	G1 السيطرة	G2استحدث بهاداء السكري	G3استحدث بها داء السكري ومعالجة 150 ملغم / كغم مستخلص عين البزون	G4استحدث بها داء السكري ومعالجة 200 ملغم /كغم مستخلص عين البزون	G5استحدث بها داء السكري ومعالجة 250ملغم/كغم مستخلص عين البزون	متوسط المدة
قبل استحداث داء السكري	a 11.71 ±0.41 A	a 11.75 ±0.25 A	a 11.65 ±0.50 A	a 11.68 ±0.46 A	a 11.68 ±0.45 A	a 11.69 ±0.20
بعد شهر من استحداث داءالسكري	a 11.89 ±0.46 A	b 9.51 ±0.32 B	b 9.79 ±0.58 B	b 9.73 ±0.47 B	b 9.75 ±0.46 B	b 10.13 ±0.26
بعد شهر من التجريع بمستخلص عين البزون	a 11.84 ± 0.28 A	b 9.64 ± 0.27 B	a 10.77 ±0.42 A	a 11.15 ±0.42 A	a 11.84 ±0.23 A	c 11.05 ±0.18
متوسط المعاملات	11.81 ±0.21 A	10.30 ±0.31 B	10.74 ±0.34 B	10.85 ±0.33 B	11.09 ±0.33 A	

المعدل ± الخطأ القياسي n=5

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الافقي تدل على وجود فروقات معنوية. $P< 0.05$

الحروف الصغيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية $P< 0.05$

بينت نتائج الدراسة إن استحداث داء السكري بالالوكسان قد سبب انخفاضا معنويا في مستوى هيموكلوبين دم ذكور الجرذ الأبيض المصابة مقارنة مع السيطرة السليمة وهذا يتفق مع نتائج دراسة (15) التي أجريت على الجرذ ويتفق مع نتائج دراسات ما توصل اليه كل من (16,17,18) اللذين أشاروا عند دراستهم على مرضى داء السكري الى انخفاض مستوى الهيموكلوبين عند المصابين بداء السكري ويزداد الانخفاض عندما يرافق الاصابة بداء السكري ارتفاع مستوى الكرياتنين .ويعتقد ان سبب الانخفاض في مستوى الهيموكلوبين الى تأثير الالوكسان في تثبيط تحرر الحديد من بروتين الفرتين (Ferritin) الذي يعد المصدر الرئيسي للحديد المهم في بناء تكوين جزيئة الهيموكلوبين (19) , وربما يؤثر الالوكسان في خفض نسبة الهيموكلوبين من خلال تثبيط سلسلة بناء وتكوين الهيموكلوبين وتكوينه وهذا ما أكده دراسة(20) .وربما يكون سبب الانخفاض نتيجة الزيادة في الاجسام المضادة التي يتعزز انطلاقها عندما تحدث الاصابة في داء السكري والناجمة عن تحطم خلايا بيتا في جزر لانكرهانز نتيجة لتأثير المناعة الذاتية

مما ينتج عنه تلف في الاغشية المخاطية للامعاء والتقليل من امتصاص فيتامين B12 (13) . ويعتقد ان سبب الارتفاع والتحسن المعنوي في الخضاب هو نتيجة الاختلافات الهرمونية والفسلجية لتأثير النبات في النشاط الانزيمي (21) , وكذلك يعتقد ان سبب الارتفاع في مستوى الخضاب وتركيزه في الكرية الى دور المستخلص الكحولي لنبات عين البزون في تنظيم المعايير الدموية (22) حيث بينت ان مستوى الهيموكلوبين يزداد في المجموعة المعالجة نتيجة انخفاض مستوى كلوكوز الدم , حيث ان ارتفاع سكر الدم أدى الى انخفاض معنوي واضح لمستويات خضاب الدم في الجرذان المستحدث فيها داء السكري ولكن عندما انخفض مستوى سكر الدم الى مستوياته الطبيعية تحسن مستوى خضاب الدم .

تشير النتائج في الجدول (2) بان استحداث داء السكري التجريبي في حيوانات التجربة قد ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى عدد كريات الدم الحمراء في الدم مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة التي لم تحقن بالالوكسان وتبين ان معاملة الحيوانات المصابة بداء السكري بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون وبجرع 250,200,150 ملغم/كغم وبمعدل مرة واحدة في اليوم ولمدة شهر سببت ارتفاعا معنويا($P<0.05$) في مستوى عدد كريات الدم الحمراء في الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة ، كما بين الجدول ارتفاع في مستوى عدد كريات الدم الحمراء في دم ذكور الجرذ الأبيض بعد شهر من التجريع بالمستخلص الكحولي لنبات عين البزون مقارنة بعد شهر من استحداث داء السكري.

جدول(2) تأثير المستخلص الكحولي لأوراق نبات عين البزون على أعداد كريات الدم الحمر R.B.C× 10^6 كرية في دم ذكور الجرذ الأبيض المستحدث بها داء السكري .

المعاملة / المدة	G1 السيطرة	G2استحدث بهاداء السكري	G3استحدث بهاداء السكري ومعالجة 150 ملغم / كغم مستخلص عين البزون	G4استحدث بها داء السكري ومعالجة 200 ملغم/كغم مستخلص عين البزون	G5استحدث بها داء السكري ومعالجة 250 ملغم/كغم مستخلص عين البزون	متوسط المدة
قبل استحداث داء السكري	a 8.66 ±0.34 A	a 8.76 ±0.84 A	a 8.72 ±0.27 A	a 8.69 ±0.44 A	a 8.64 ±0.37 A	a 8.69 ±0.19
بعد شهر من استحداث داءالسكري	a 8.22 ±0.32 A	b 6.56 ±0.25 B	b 6.75 ±0.47 B	b 6.47 ±0.27 B	b 6.72 ±0.48 B	b 6.94 ±0.20
بعد شهر من التجريع بمستخلص عين البزون	a 8.72 ± 0.27 A	b 6.15 ± 0.74 B	ab 7.77 ±0.92 A	a 8.16 ±0.17 A	a 8.94 ±0.40 A	c 7.95 ±0.26
متوسط المعاملات	8.53 ±0.18 A	7.16 ±0.42 B	7.75 ±0.39 AB	7.77 ±0.54 AB	8.10 ±0.34 A	

المعدل ± الخطأ القياسي n=5

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الافقي تدل على وجود فروقات معنوية $P< 0.05$

الحروف الصغيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية $P< 0.05$

اظهرت نتائج الدراسة ان استحداث داء السكري بالالوكسان قد سبب انخفاضا معنويا في عدد كريات الدم الحمر في دم ذكور الجرذان المصابة مقارنة مع السيطرة السليمة وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي اجريت على الارانب (23) وقد يعود ذلك الى خلل ايضي وظيفي للكريات الحمر يصاحبه قصر في عمرها(Short life-Span) عند الاصابة بداء السكري . ربما تكون الالوكسان من المواد السامة التي لها تاثير على كريات الدم الحمر بحيث تؤدي الى انخفاض اعدادها (24) . اوضح (25) ان كريات الدم الحمر تتبلعم بسهولة Phagocytosis بواسطة البلعم الكبير في الفئران المصابة بداء السكري المستحدث بالالوكسان مما يقصر من عمرها .

اما عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون فقد سبب ارتفاع في عدد كريات الدم الحمر وقد يعود سبب هذا الارتفاع الى مضادات الاكسدة القوية التي يمتلكها نبات عين البزون والتي تقوم بدورها بحماية كريات الدم الحمر من الاضرار الناتجة عن ارتفاع الجذور الحرة (26) . كما ان كريات الدم الحمر لاتتعرض للتحلل Haemolysis عند معالجتها بالمستخلص الكحولي لنبات عين البزون مما يؤدي الى زيادة في اعدادها (27) .

تبين نتائج الجدول (3) بان استحداث داء السكري التجريبي في حيوانات التجربة قد ادى الى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في مستوى عدد خلايا الدم البيض في الدم مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة التي لم تحقن بالالوكسان وتبين ان معاملة

الحيوانات المصابة بداء السكري بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون وبجرع 150 ,250,200 ملغم/كغم وبمعدل مرة واحدة في اليوم ولمدة شهر سببت انخفاضاً معنويا ($P<0.05$) في مستوى عدد خلايا الدم البيض في الدم مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة .كما بين الجدول ان لفترة التجريع تاثير معنوي ($P<0.05$) في مستوى عدد خلايا الدم البيض في الدم لذكور الجرذ الابيض حيث كان الانخفاض معنوي ($P<0.05$) بعد شهر من التجريع بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون مقارنة مع بعد شهر من استحداث داء السكري.

جدول (3) تأثير المستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون على أعداد خلايا الدم البيضاء W.B.C $\times 10^3$ خلية في دم ذكور الجرذ الابيض المستحدث بها داء السكري .

المعاملة / المدة	G1 السيطرة	G2استحدث بهاداء السكري	G3استحدث بها داء السكري ومعالجة 150 ملغم /كغم مستخلص عين البزون	G4استحدث بها داء السكري ومعالجة 200ملغم/كغم مستخلص عين البزون	G5استحدث بها داء السكري ومعالجة 250ملغم /كغم مستخلص عين البزون	متوسط المدة
قبل استحداث داءالسكري	a 7.92 ±0.26 A	a 7.38 ±0.27 A	a 7.75 ±0.21 A	a 7.88 ±0.20 A	a 7.49 ±0.21 A	a 7.68 ±0.10
بعد شهر من استحداث داءالسكري	a 7.19 ±0.24 A	b 12.32 ±0.28 B	b 12.50 ±0.50 B	b 12.18 ±0.44 B	b 12.32 ±0.23 B	b 11.30 ±0.45
بعد شهر من التجريع بمستخلص عين البزون	a 7.55 ±0.23 A	b 12.32 ±0.24 B	c 9.0 ±0.22 C	c 8.91 ±0.51 C	a 7.85 ±0.22 A	c 9.13 ±0.37
متوسط المعاملات	7.55 ±0.15 A	10.67 ±0.64 B	9.75 ±0.57 C	9.66 ±0.54 C	9.22 ±0.64 D	

المعدل ± الخطأ القياسي n=5

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الافقي تدل على وجود فروقات معنوية $P< 0.05$

الحروف الصغيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية $P<0.05$

بينت نتائج الدراسة ان استحداث داء السكري بالالوكسان قد سبب ارتفاعا في عدد خلايا الدم البيض في دم ذكور الجرذ الابيض وهذا يتفق مع نتائج دراسات ماتوصل اليه كل من (28) و (23) التي اجراها على الارانب , و (29) التي اجراها على الجرذان المصابة بداء السكري المستحدث بالالوكسان وتعود الزيادة في عدد خلايا الدم البيض الى زيادة في معدل عدد الخلايا العدلة إلى أن هذه الخلايا تعاني من تثبيط في هجرتها في دم مرضى داء السكري ، كما ان المستضدات البنكرياسية هي الأخرى تسبب تثبيط هجرة الخلايا العدلة عند مرضى داء السكري المعتمدين على الأنسولين مما يتسبب في تراكمها في مجرى الدم وبالتالي زيادة أعدادها (30). كما قد تفسر السبب في ارتفاع عدد خلايا الدم البيض في مرضى داء السكري على أساس تحفيز نخاع العظم لانتاج الخلايا المحببة العدلة والحمضة (31) .

اما عند المعاملة بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون فقد سبب انخفاضا في عدد خلايا الدم البيض بسبب امتلاك مستخلص اوراق عين البزون المواد الفعالة المضادة للاكسدة التي تعمل على تثبيط تكتل الصفائح الدموية وتجلط الدم (32) , وقد يعزى الانخفاض في اعداد خلايا الدم البيض الى التأثيرات الخلوية التي يسببها النبات في خلايا نسيج الاعضاء المنتجة للدم كالطحال والكبد او نتيجة لحصول تفاعلات التهابية في الكبد نتيجة معالجتها بالمستخلص وحصول ارتشاح اعداد كبيرة من خلايا الدم البيض في مناطق الاذى ومن ثم انخفاض اعدادها في مجرى الدم (33) .

تبين نتائج الجدول (4) بان استحداث داء السكري التجريبي في حيوانات التجربة قد ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.05$) في حجم خلايا الدم المرصوصة في الدم مقارنة بمستواه في مجموعة السيطرة السليمة التي لم تحقن بالالوكسان وتبين ان معاملة الحيوانات المصابة بداء السكري بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون وبجرع 150, 250,200 ملغم/كغم وبمعدل مرة واحدة في اليوم ولمدة شهر سببت ارتفاعاً معنويا ($P<0.05$) في حجم خلايا الدم المرصوصة مقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة. كما بين الجدول ان لفترة التجريع تاثير معنوي ($P<0.05$) في قيم مكداس الدم لذكور الجرذ الابيض حيث كان الارتفاع معنوي ($P<0.05$) بعد شهر من التجريع بالمستخلص الكحولي لاوراق عين البزون مقارنة مع بعد شهر من استحداث داء السكري .

جدول (4) تأثير المستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون على مستويات حجم خلايا الدم المرصوصة PCV % في دم ذكور الجرذ الابيض المستحدث بها داء السكري .

المعاملة / المدة	G1 السيطرة	G2استحدث بهاداء السكري	G3استحدث بها داء السكري ومعالجة 150 ملغم / كغم مستخلص عين البزون	G4استحدث بها داء السكري ومعالجة 200 ملغم/كغم مستخلص عين البزون	G5استحدث بها داء السكري ومعالجة 250 ملغم/كغم مستخلص عين البزون	متوسط المدة
قبل استحداث داء السكري	a 37.67 ±1.42 A	a 37.51 ±1.60 A	a 37.86 ±1.39 A	a 37.45 ±1.49 A	a 37.47 ±1.59 A	a 37.59 ±0.61
بعد شهر من استحداث داءالسكري	a 37.47 ±1.59 A	b 30.79 ±1.58 B	b 30.89 ±2.21 B	b 30.89 ±2.21 B	b 30.87 ±1.01 B	b 32.18 ±0.75
بعد شهر من التجريع بمستخلص عين البزون	a 37.45 ± 1.49 A	b 30.87 ±1.01 B	a 35.09 ±1.01 AB	a 36.51 ±1.16 A	a 37.98 ±1.38 A	c 35.58 ±0.72
متوسط المعاملات	37.53 ±0.81 A	33.06 ±1.13 B	34.61 ±0.98 B	34.95 ±1.02 B	35.44 ±1.13 A	

المعدل ± الخطأ القياس n=5

الحروف الكبيرة المختلفة بالاتجاه الافقي تدل على وجود فروقات معنوية $P<0.05$

الحروف الصغيرة المختلفة بالاتجاه العمودي تدل على وجود فروقات معنوية $P<0.05$

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان استحداث داء السكري بالالوكسان قد سبب انخفاضا في مستوى حجم الخلايا المرصوصة في دم ذكور الجرذ الابيض وهذا يتفق مع نتائج (22) ويعتقد ان سبب الانخفاض هو نتيجة لتأثير الالوكسان في كريات الدم الحمر من خلال تأثيره في عملية تكوين كرية الدم الحمراء Erythropoises من خلال التأثير في انقسام أمهات كريات الدم الحمر heamocyto blast المتواجدة في نخاع العظم وبالتالي انخفاض في مستوى حجم الخلايا المرصوصة (34) , وقد يكون سبب الانخفاض في حجم خلايا الدم المرصوصة بسبب تاثير الالوكسان حيث تعمل على تثبيط تخليق الحامض النووي منقوص الأوكسجين(DNA) (Deoxy ribo nucleic acid) والذي يؤثر في تخليق البروتين مما يؤدي إلى انخفاض في حجم خلايا الدم المرصوصة ، وكذلك يعود السبب الى نشوء خلايا دم حمراء غير ناضجة وصغيرة الحجم مما يؤدي الى اخفاض في حجم الانضغاطي لخلايا الدم الحمراء(35) .

اماعند المعاملة بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات عين البزون فقد سبب ارتفاعا في حجم خلايا الدم المرصوصة نتيجة المكونات الفعالة الموجودة في الاوراق المضادة للأكسدة (27) , وكذلك بينت النتائج زيادة مستوى مكداس كريات الدم الحمر حيث بين (36) إن المصابين بداء السكري تكون لزوجة الدم لديهم عالية مما يؤدي بالنتيجة إلى ارتفاع معنوي في حجم الخلايا المضغوط PCV الناجم عن زيادة تركيز الدم لارتفاع مستوى السكر غير المستهلك في الدم .

المصادر :

1-Crespilho, D.M;Leme,J.A.C.A;Mello,M.A.R.and Luciano, E.(2011). Effects of physical training on the immune system in diabetic rats .Int.J.Diab. Ctries.,30:233-240.

2- Hirschhorn, J.N. (2003).Genetic epidemiology of type 1 diabetes. Pediatr Diabetes, 4: 87-100.

3-William, E. W; Neil, H. and Desmond, S. (2002) . Immunological Markes in the Diagnosis and prediction of Autoimmune type 1 a Diabetes. Clin. Diabetes, 20 : 183-191.

4-Galletto, R; Siqueira, V. L; Ferreira, E. B; Oliveira, A. J. and Bazotti, R. B. (2004). Absence of antidiabetic and hypolipidemic effect of *Gymnema sylvestre* in non diabetic and alloxan diabetic rats. Brazilian Archives of Biology and Technology, 47: 545-551.

5-Benny, K. and Adithan,A.C. (2000). Review of endocrine pharmacology.Indian. J. pharmacology, 32: 67-80.

6-Zhau, m. L ; Shao, J. R. and Tang, Y. X. (2009). Prodution and metabolic engineering of terpenoid indole alkaloids in cell cultures of medicinal plant *Catharanthus roseus*(L.)G .Don(Madagascar Periwinkle). Biotechnol . Appl. Biochem. , 52(4):23-31.

7-Saikat,D ; Sekahar, B; Ranabir, S. and Subhash,M. (2008).Antidiabetic effect of matured fruits of *Diospyros peregrine* in alloxan induced diabetic rats. Int. J. Green Ph.2(2):95-99.

8- deCarvalho, E. N; deCarvalho, N. A. S.and Ferreiva. L.M.(2003).Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats.Acta., Bras.,18.

9- Alarcon-Aguilara, F. J ; Romas, R ; Perez-Gutierrez, S ; Aguilar-Contreras, A.;Contreras-Weber, C.C.and Flores-Saenz, J.L. (2002).Study of antihyperglycemic effect of plant used of antidiabetic. J. Ethnopharmacol., 61 (2) : 101 – 110.

10-Kerem,Z; German-Shashoua,H. and Yarden,O.(2005).Microwave–assisted extraction of bioactive saponins from chickpea (*Cicer arietinum* L). J. Sci. Food Agric., 85:406–412.

11-Rodac ,S.B. (2002) .Hematological Clinical principles and application .2nd Ed .WB. Saunder company. Philadelphia ,London ,Toronto , 156.

12- Dacie , V. and Lewis , S.M. (1995). Practical Hematology .2 ed Philadelphia, Tokyo .,352-354.

13- Hillman, R.S. and Ault, K.A.(2002). Hematology in clinical practice. 3rd ed., McGraw-Hill, PP. 46-47.

14-الساهوكي، مدحت . ووهيب ، كريمة محمد . (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب ، جامعة بغداد.

15- Sima, A.(2003).C-peptide and diabetic neuropathy. Expert Opin Investing Drug ;12:1471-88.

16- Singh, B.and sangwan, P.(2011).Taxonomy, International journal of biotechnology and bioscience .1(11): 102-112.

17-Criswell, K; Sulhanen, A; Hochbaum, A.F.and Bleavens, M.(2002).Effect of PHZ orphlebotomy on peripheral blood, bone marrow and erythropoietin in Wistar rats., J. Appl Toxicol. 20: 25-29.

18-Mehta, K.N; Parik ,K.H; Chag, M.C.and Shah, V.G. (2003). Effect of treatment on homocysteine Mia in cardiac patients: a prospective study.Indian J. of Pharma. 35(5):410.

19-Thomas, C.E. and Aust, S.D.(1986). Reductive release of iron from 5-ferritin by cation free radicals of paraquat and diquat and other bipyridyls.J.Biol . chem. 1986, 261 (28) : 13064 – 70.

20-USEPA.(2003). Approved the first–time tolerance for residues of pesticides in or on agricultural and livestock commodities. Pesticide Tolerance. Final Rule. Federal Register. Mechanistic studies – [870. 7485] (64) 4.

21- Chowdhury, B; Chkraborty, R. and Raychhaudhuri, U.(2008). Study on beta galactosidase enzymatic activity of herbal yogurt. Int. J. Food.Sci.Nutri. Mar.,59(2):116-122.

22- Mansi,K. and Laham,J.(2008). Effects Of *Artemisia Sieberi Besser (A.Herba-Alba)* on heart rate and some hematological values in normal and alloxan-induced diabetic rats .J.Basic and Applied, Sci.Vol. 4, No. 2, 57- 62 .

23- الموسوي , احمد نعمة عيسى . (2014) . تأثير المستخلص المائي لبذور الكزبرة على بعض معايير الدم الوظيفية والكيموحيوية والنسجية في ذكور الارانب المصابة بداء السكري . رسالة ماجستير , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة كربلاء.

24- Yousef, M.I; El-Demerdash, F.M; Kamel, K. I. and Al –Salhen, K.S. (2003). Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced by Isoflavones and cypermethrin.Toxicol. 189: 223-234.

25-Vlassara, H;Valinsky, J;Brownlee, M;Cerami, C; Nishimoto, S. and Cerami A.(1987). Advanced glycation endoproducts on erythrocyte cell surface induce receptor-mediated phagocytosis by microphage. A model for turnover of aging cells. J. Exp. Med., 166:539-549.

26-Rao, G.U; Kamath, C; Raghothama, K.S.P; Rao, P. (2003). Maternal and fetal indicators of oxidative stress in various obstetric complications. Ind.J. Clin. Biochem. 18:80-86.

27- Kazembe ,T. and Chinyuku,J.(2012). In vitro efficacy of extracts of *Cantharanthus roseus* and *Erythrina abbysinica* on *Babesia bigemina* ,Bulletin of Environment ,Ph. Life Sci.,32-38.

28-Vozarova,B; Weyer, C; Hanson, K; Tatanni, P. A; Bogardus, C. and Ppratley, R .E. (2001). Circulating interleukin-6 in relation to adiposity,insulin action, and insulin secretion. Obes., Res.,9: 414–417.

29- النائلي ، أحمد جاسم حسين . (2013) . دراسة وظيفية- كيموحيوية لتأثير التغيرات الحرارية في ذكورالجرذان البيض السليمة والمصابة تجريبيا بداء السكري النوع الاول . اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة القادسية .

30-Rossetti, L; Giaccari, A; Barzilai, N; Howard, K. and Sebel, G. H. M. (1993). Mechanism by which hyperglycemia inhibits glucose production in conscious rats. Implication for pathophysiology of fastin hyperglycemia in diabetes. J. Clin. Invest., 92 : 1126 – 1134.

31- الحسيني، رند محمد عبد الحسين .(2003) دراسة كيموحيوية ومناعية عن تاثير بذور الحبة السوداء Nigella sativa L. في مرض داء السكري . رسالة ماجستير , كلية العلوم- جامعة الكوفة .

32-James ,S.A;Bilbis, S.L.and Muhammed, B.Y.(2007) . Effect of *catharanthus roseus* aqueous leaf extract on some heamathological indices as determined in rabbits. Chem Class.J.Vol.4:138-139. 33-Sakr, S.A. and Gabr, S.A. (1992). Long-term effects of chlordane on the tissues of rabbits. Histological changes in the liver. J. Egypt. Ger. Soc. Zool., (07c): 319-329.

34-USEPA. (1993). The us Environmental protection agency established tolerances for pesticides used for food commodities, washing to 4DC. as cited by USEPA in : Federal Register: january12,1994. Part IV. 40 CFR part 372. Addition of certain chemicals, Toxic chemical Release Reporting ; community Right – to – know ; proposed Rule.

35-Rogers, P.and Rogers,A.(1982). Differential sensitivity of lymphocyte subsets to corticosteroid treatment. Immunol. 46(4): 841-848.

36- Al- Wajidi, T. A. M; Ghalib, A.and Nabaa, A. B. (2002) . Effects of Plasma, RBCs Viscosity and Aggregation on the Heamorheology in Diabetes Mellitus. J. Basic. Med. Sc. 2: 8 -16.