دراسة الآفات النسجية المحدثة بفعل بكتيريا *Escherichia coli* في كبد الفئران البيض وعلاجها بماء زمزم

شيرين عادل علي ، عزيز خالد حميد

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

(تاريخ الاستلام: 2012/9/25 ---- تاريخ القبول: 2012/12/27)

الملخص

هدفت الدراسة الحالية إلى إستكشاف الآفات النسجية في كبد الفئران البيض التي تظهر عند إصابتها ببكتريا *Escherichia coli* عن طريق الفم مختبرياً ومحاولة العلاج باستخدام ماء زمزم لمدتين زمنيتين مختلفتين . وقد بينت من هذه الدراسة بأن بكتيريا *E.coli* تسبب تغيرات نسجية كبيرة في الكبد فقد حدث فيها انفصال الخلايا البطانية من بطانة الوريد المركزي وحدوث نزف واحتقان دموي ، إرتشاح الخلايا الالتهابية بين الخلايا الكبدية ونخر وتحلل الخلايا الكبدية . بينما التغيرات النسجية في كبد الفئران المعالجة بماء زمزم أظهرت تحسنا ملحوظا من حيث قلة حالات النخر والتحلل والنزف الدموي وإرتشاح الخلايا الالتهابية وكانت نتائج العلاج للمجاميع المعالجة لمدة 10 أيام أفضل من المجاميع المعالجة لمدة 5 أيام في كلا المجموعتين العلاجية .

المقدمة

قال الرسول (صلى الله عليه وسلم) : "زمزم طعام طعم وشفاء سقم [1]. بئر زمزم فجره جبريل عليه السلام بأمر من الله سبحانه وتعالى تكريما" لام إسماعيل ورضيعها اللذين تركهما نبي الله إبراهيم عليه السلام بواد غير ذي زرع عند بيت الله المحرم . وأن ماء زمزم معجزة إلهية [2] . ويعد الماء من ضروريات الحياة وهو يأتي في المرتبة الثانية بعد الهواء ويعد من أكثر المركبات تأثيرا في حيوية الجسم [3] . أثبت العلم الحديث إن ماء زمزم يختلف عن جميع أنواع المياه في العالم وإن فيه تركيبات ربانية خصه الله بِها ويمتلك خصائص تميزه عن جميع أنواع المياه في العالم ومن بين هذه الخصائص التي أشارت إليها الدراسات انه لايتعفن ولاينقطن ولا يتغير طعمه أو لونه أو رائحته ويرجع ذلك إلى مكوناته الكيميائية التي تمنع نشاط الجراثيم والبكتريا والفطريات [4] . ويعد ماء زمزم من أعظم المياه المعدنية المستخدمة في العلاج على مستوى العالم وماء زمزم غني بالمعادن كالكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم والمغنيسيوم والفلوريد [5] . حيث إن مجموع الأملاح المعدنية في ماء زمزم يبلغ حوالي 2000 ملغ/لتر. وبذلك تطبق على ماء زمزم مواصفات المياه الغنية بالمعادن [6] . وأنَّ شرب المياه الغنية بالصوديوم ، البيكاربونات والكلوريدات تعمل على زيادة الاستجابة المناعية وزيادة الخلايا المكونة للأجسام المضادة Anti body بنسبة تصل إلى 95,86% ، كما إنها تزيد من قدرة الخلايا الإلتهامية Macrophages على إلتهام الأجسام الغريبة [7] وأن ماء زمزم قلوي ممغنط وفيه طاقة روحية شفائية حيث إن الأس الهيدروجيني له بلغ 7.8 وهو من المشروبات مضادة للأكسدة [8] .

طرق العمل

البكتيريا المستخدمة

تم جلب بكتيريا الاختبار *Escherichia coli* من مستشفى تكريت التعليمي مشخصة تشخيصا كاملا في أوساط للحفظ محكمة السد ، بعدها تم زرع الجرثومة في وسط أكار المغذي Nutrient Agar وحضنت في 37مْ لمدة 24 ساعة وبعد ظهور النمو تم اختيار المستعمرات المفردة ذات المواصفات المطلوبة لتزرع على موائل Slants أكار المغذي المائل وحفظت في 4مْ .

الحيوانات المختبرية

تهيئة الحيوانات

تم استخدام الحيوانات من نوع Albino mice بعمر (9–12) أسبوعا لكلا الجنسين معدل أوزانها (25±3) غراماً وبصحة جيدة، وتم اخضاعها لظروف بيئية مناسبة وثابتة (درجة الحرارة 15 مْ) وتغذية ملائمة .

الجرعة الممرضة في الفئران والعد الجرثومي

حددت الجرعة المميتة الوسطية (LD_{50}) باستخدام طريقة التخافيف لتحضير العالق البكتيري و التي كانت 3×10^4 خلية/ مل [9] .

تصميم التجربة

استخدمت في هذه التجربة 40 فأرة وقد تم تقسيم الفئران إلى 4 مجاميع بواقع 10 فئران لكل مجموعة :

المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة) : جرعت بالمحلول الفسلجي بمقدار 1 مل .

المجموعة الثانية : جرعت بمعلق البكتيريا *E.coli* الممرضة بمقدار 1 مل لكل فأرة .

المجموعة الثالثة : جرعت بمعلق البكتيريا *E.coli* الممرضة ثم عولجت بماء زمزم جرعة مفتوحة لمدة 5 أيام .

المجموعة الرابعة : جرعت بمعلق البكتيريا *E.coli* الممرضة ثم عولجت بماء زمزم جرعة مفتوحة لمدة 10 أيام .

ومن ثم تم قتل حيوانات المجاميع المذكورة سابقا وتشريحها وتم اخذ العضو المراد دراسته .

تحضير المقاطع النسجية

حضرت المقاطع النسجية في مختبر علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة تكريت [10] . التي تشمل العمليات الاتية :

1. التثبيت Fixation .
2. الغسل The Washing .
3. الإنكاز The Dehydration .
4. الترويق The Clearing .
5. التشريب The Infiltration .
6. الطمر The embedding .
7. التشذيب والتقطيع The trimming and sectioning .
8. الإرساء .
9. الفحص المجهري للمقاطع النسجية والتصوير المجهري .

النتائج

نتائج الفحص النسجي لكبد الفئران المجرعة ببكتيريا *E.coli* الممرضة والمعالجة بماء زمزم

كبد مجموعة السيطرة

يتألف الكبد نسجياً من خلايا كبدية Hypatocytes و الحويجزات Trabeculae مقسمة الكبد إلى عدة فصيصات كبدية Hepatic lobules وداخل كل فصيص ورید صغير مركزي Central vien و يتركب الفصيص بصورة رئيسية من عدد كبير من صفائح خلوية كبدية تسمى بالصفائح الكبدية Hepatic laminae ، تقع بين الصفائح الكبدية نوع من الشعيرات الدموية تدعى بالجيبانيات الكبدية Hepatic sinusoids . صورة رقم (1) .

كبد مجموعة الإمراضية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن الصفائح الكبدية Hepatoplates غير واضحة والجيبانيات Sinusoid تكون متوسعة وفيها كريات دم الحمر بكثافات مختلفة وخلايا كوفر kupffer cells أيضا تكون واضحة في بطانة الجيبانيات لأنها خلايا بلعمية وهناك أيضا تحلل لكريات الدم الحمر Hemolysis ضمن الجيبانيات sinusoids مع وجود الخلايا البلعمية phagocytes . بطانة الوريد المركزي في اغلب فصوص الكبد تكون ممزقة وهي متكونة من الخلايا البطانية Endothelial cell ونلاحظ إرتشاح الخلايا اللمفية قرب قسم من الأوردة المركزية مع وجود تنكس Degeneration للخلايا الكبدية . كما في الصور (2,3,4,5) .

كبد المجموعة العلاجية

مجموعة المعالجة بماء زمزم لمدة 5 أيام

تبدأ الخلايا الكبدية بانتظام ولكن هناك أعداد كبيرة من الخلايا في مرحلة النخر necrosis والتحلل Degeneration والجيبانيات لاتكون واضحة المعالم وخلايا كوفر Kupffer cells كبيرة الحجم وهناك كريات الدم الحمر في الجيبانيات والمناطق القريبة من الوريد المركزي وبطانة التجويف بدأت بالإصلاح متمثلة بوجود الخلايا البطانية ولازالت هناك مناطق في الكبد يوجد فيها تحلل دموي Hemolysis . كما موضح في الصور (6،7) .

مجموعة المعالجة بماء زمزم لمدة 10 أيام

الخلايا الكبدية مرتبة شعاعيا من الوريد المركزي مع عدم اكتمال الخلايا المكونة للصفائح من حيث الترتيب وسعة الجيبانيات ولازالت الخلايا البلعمية كبيرة . بطانة الوريد المركزي تظهر فيها الخلايا البطانية غير المكتملة للتبطين التجويف ولازال هناك إرتشاح للخلايا اللمفية . كما في الصور (8) .

نتائج الفحص النسجي لكبد الفئران المجرعة ببكتيريا *E.coli* الممرضة والمعالجة بماء زمزم

كبد مجموعة السيطرة

يتألف الكبد نسجياً من خلايا كبدية Hypatocytes والحويجزات Trabeculae مقسمة الكبد إلى عدة فصيصات كبدية Hepatic lobules وداخل كل فصيص ورید صغير مركزي Central vien ويتركب الفصيص بصورة رئيسية من عدد كبير من صفائح خلوية كبدية تسمى بالصفائح الكبدية Hepatic laminae ، تقع بين الصفائح الكبدية نوع من الشعيرات الدموية تدعى بالجيبانيات الكبدية Hepatic sinusoids . صورة رقم (1) .

كبد مجموعة الإمراضية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن الصفائح الكبدية Hepatoplates غير واضحة والجيبانيات Sinusoid تكون متوسعة وفيها كريات دم الحمر بكثافات مختلفة وخلايا كوفر kupffer cells أيضا تكون واضحة في بطانة الجيبانيات لأنها خلايا بلعمية وهناك أيضا تحلل لكريات الدم الحمر Hemolysis ضمن الجيبانيات sinusoids مع وجود الخلايا البلعمية phagocytes . بطانة الوريد المركزي في اغلب فصوص الكبد تكون ممزقة وهي متكونة من الخلايا البطانية Endothelial cell ونلاحظ إرتشاح الخلايا اللمفية قرب قسم من الأوردة المركزية مع وجود تنكس Degeneration للخلايا الكبدية . كما في الصور (2,3,4,5) .

كبد المجموعة العلاجية

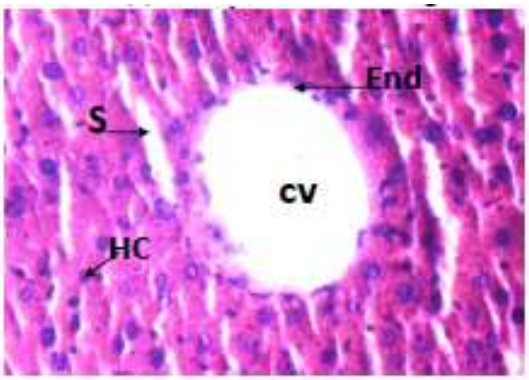
مجموعة المعالجة بماء زمزم لمدة 5 أيام

تبدأ الخلايا الكبدية بانتظام ولكن هناك أعداد كبيرة من الخلايا في مرحلة النخر necrosis والتحلل Degeneration والجيبانيات لاتكون واضحة المعالم وخلايا كوفر Kupffer cells كبيرة الحجم وهناك كريات الدم الحمر في الجيبانيات والمناطق القريبة من الوريد المركزي وبطانة التجويف بدأت بالإصلاح متمثلة بوجود الخلايا البطانية ولازالت هناك مناطق في الكبد يوجد فيها تحلل دموي Hemolysis . كما موضح في الصور (6،7).

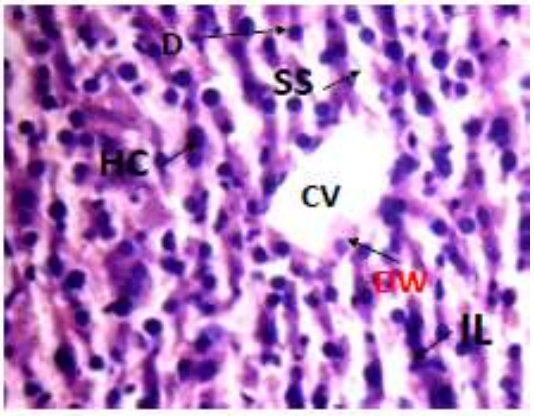
مجموعة المعالجة بماء زمزم لمدة 10 أيام

الخلايا الكبدية مرتبة شعاعيا من الوريد المركزي مع عدم اكتمال

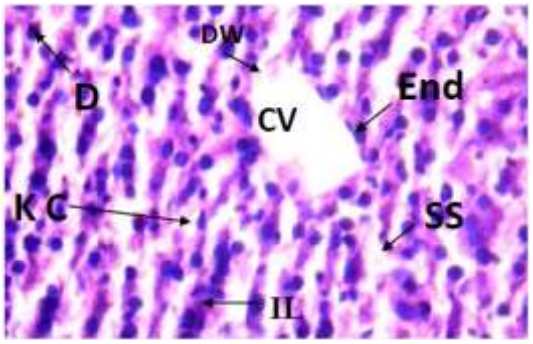
الخلايا المكونة للصفائح من حيث الترتيب وسعة الجيبانيات ولازالت الخلايا البلعمية كبيرة . بطانة الوريد المركزي تظهر فيها الخلايا البطانية غير المكتملة للتبطين التجويف ولازال هناك إرتشاح للخلايا اللمفية . كما في الصور (8) .



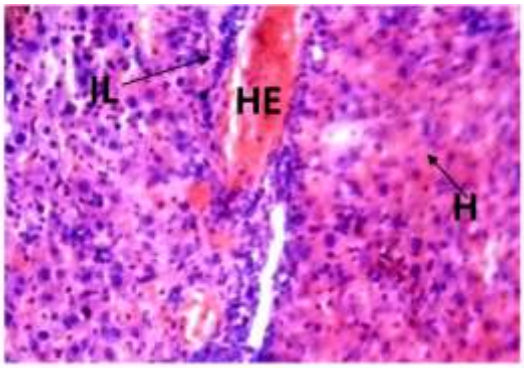
صورة (1) توضح كبد فار غير معامل توضح ترتيب الصفائح الكبدية حول الوريد المركزي CV والخلايا الكبدية HC والجيبانيات S والخلايا البطانية End ، الصبغة H&E ، 400 X



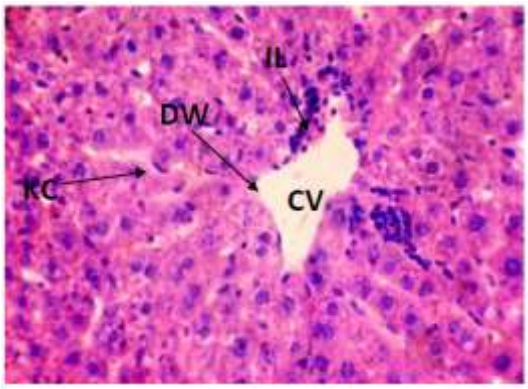
صورة (2) لكبد فار من المجموعة الامراضية تظهر فيها الصفائح الكبدية Hc الغير المنتظمة والجيبانيات المتوسعة SS وتمزق بطانة DW الوريد المركزي وارتشاح الخلايا اللمفية IL الصبغة H&E ، 400 X



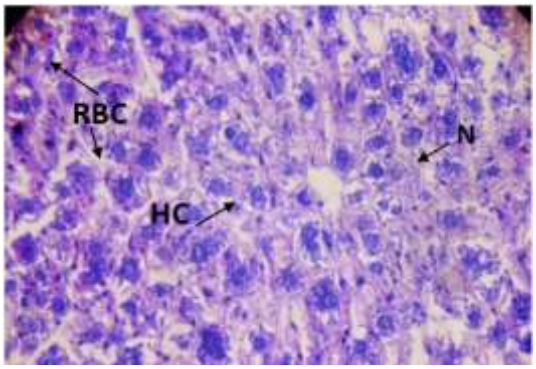
صورة (3) لكبد فار من المجموعة الامراضية توضح توسع الجيبانيات SS الخلايا الكبدية وتحلل الانوية D وكبر حجم خلايا كوبفر Kc مع ارتشاح الخلايا اللمفية وتلف بطانة الوريد المركزي CV وارتشاح الخلايا اللمفية IL الصبغة H&E ، 400 X



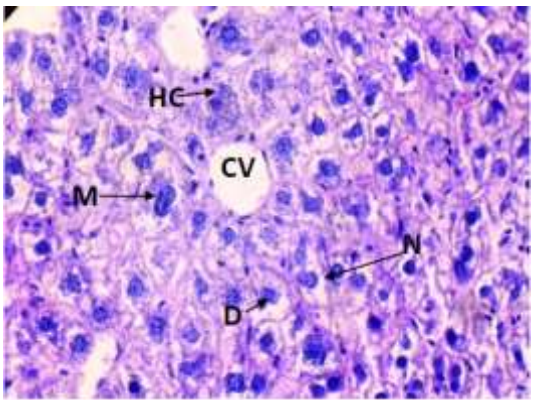
صورة (4) لكبد فار معالج بماء زمزم لمدة 10 أيام توضح ترتيب الخلايا الكبدية حول الوريد CV ووضوح الجيبانيات S وقلة توسعها وقلة ارتشاح الخلايا اللمفية IL ووضوح الخلايا كوبفر Kc الصبغة H&E ، 400 X



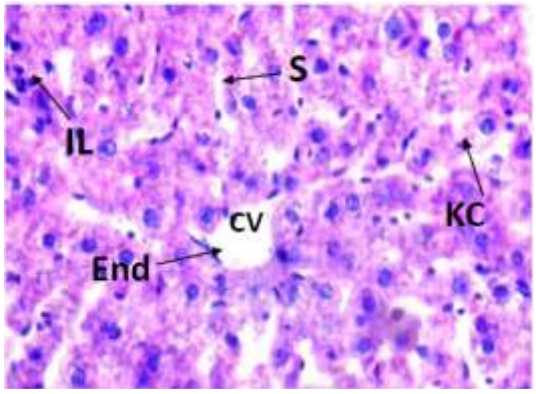
صورة (5) لكبد فار من المجموعة الامراضية توضح ارتشاح الخلايا اللمفية IL حول الوريد المركزي CV ووضوح خلايا كوفرKC وتلف في جدار الوريد المركزي DW.الصبغةH&E ، 400 X



صورة (6) لكبد فار معالج بماء زمزم لمدة 5 أيام توضح وجود التنخر في بعض الخلايا ووجود كريات الدم الحمر ووضوح اغشية الخلايا الكبدية الصبغة H&E ، 400 X



صورة (7) لكبد فار معالج بماء زمزم لمدة 5 أيام توضح ترتيب الخلايا الكبدية HC حول الوريد المركزيCV ولازال هناك نخر N وتحلل لبعض الخلايا الكبدية D وخلايا البلعمية العملاقة M الصبغة H&E ، X 400



صورة (8) لكبد فار معالج بماء زمزم لمدة 10 أيام توضح ترتيب الخلايا الكبدية حول الوريد CV ووضوح الجيبانيات S وقلة توسعها وقلة ارتشاح الخلايا اللمفية IL ووضوح الخلايا كوبفر Kc الصبغةH&E ، X 400

المناقشة

الفحص النسجي لكبد الفئران المصابة ببكتريا *E.coli*

من خلال نتائج هذه الدراسة تبين بأن الكبد تتأثر عند الاصابة بالبكتيريا *E.coli* الممرضة إذ ظهر في الكبد آفات تنكسية Degenerative lesions تمثلت الافات بحصول تحطم جدار الوريد المركزي ، انتشار كريات الدم الحمر مع وجود الاحتقان ، تضخم خلايا كوفر Hypertrophy of kupffer cells وحالات تنخر وتنكس للصفائح الكبد وتحلل الخلايا وحيث يعزى ذالك الى فعل السموم الداخلية Endotoxin التي تعد جزءاً من مكونات جدار البكتريا السالبة لصبغة كرام إذ إن دخول E.coli الممرضة للأمعاء في النسيج يؤدي إلى حدوث استجابة دفاعية التهابية من قبل النسيج [11] وتحرر الخلايا الدفاعية يعزى إلى تحرر مواد ذات قابلية لجذب الكيمياوي للخلايا الدفاعية الملتهمة بغية التخلص منها وهذا أدى إلى موت المزيد من الخلايا وتحللها [12] . حيث أن الخلايا الكبدية المتضررة تطلق مركبات مثل Prostaglandin E1 لها القدرة على الجذب الكيمياوي للخلايا المتعادلة Neutrophilis ، أما الزيادة في عدد خلايا كوفر ماهي الا نتيجة لإلتهاب نسيج الكبد بسبب البكتريا او سمومها الذي يحفز الخلايا لبدأ طور G_1 من دورة حياة الخلية وتضاعفها [11] . وقد وافقت نتائجنا ما وجده خليفة واخرون الذين اشاروا إلى أن بكتيريا *E.coli* الممرضة تسبب في احداث افات نسجية شديدة في الكبد بسبب التأثيرات المباشرة للبكتيريا وسمومها للخلايا الكبدية [13] .

الفحص النسيجي لكبد الفئران المصابة ببكتيريا *E.coli* والمعالجة بماء زمزم

أظهرت نتائج الفحص المجهري لكبد الفئران المصابة والمعالجة بماء زمزم تحسناً ملحوظاً تمثل في استعادت نسيج الكبد للتركيب التنظيمي من حيث الشكل وترتيب الخلايا الكبدية ويعود هذا التحسن الى دور مضادات الأكسدة المتمثلة بالعناصر النزرة مثل الزنك والخارصين الموجودة في ماء زمزم التي تعمل على حماية الخلايا من تاثير السموم الداخلية المفرزة من قبل البكتيريا وتعمل على زيادة عمليات الاكسدة التي تصاحبها تغيرات نسجية مختلفة وفي حماية الخلايا من التحطم والموت المبرمج من خلال تحفيزه لفعالية الكثير من الانزيمات وخصوصا المضادة للأكسدة [14] . وان شرب المياه المعدنية الغنية بالصوديوم والبيكاربونات والكلوريدات تعمل على زيادة الاستجابة المناعية وزيادة الخلايا المكونة للأجسام المضادة كما وتزيد من قدرة الخلايا الالتهامية Macrophages على الإلتهام [7] .

المصادر

1. مسلم ، محيي الدين أبو زكريا يحي النووي . (1392) المنهاج شرح صحيح مسلم بن الحجاج . ط ، 2، دار إحياء التراث العربي – بيروت .

2. Naeem, N.; AL-sanussi, H , and AL-Mohands, A . (1983) . mutiemental and hydrochemical stydy of holy zamzam water . J. New Eng. Water world Asso.(47) :158 .

3. النوري ، فاروق فاضل والطلباني ، لامعة جمال .(1981) . تغذية الإنسان. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة موصل . دار الكتب للطباعة والنشر.

4. Al- Farid M. Ali, Mona Rafik, Monamed Hussen , Lila Farid . (2008) .Tretment of cervecal IsnuffIclency,Abortion by activated zamzam water autolgenous human peripherial blood mononuclear cell (modrentrend) .

5. ALzuhair, N.and Khounganian , R (2009). Acomparative study between the chemical composition of potable water and zamzam water in Saudi Arabia .13 th international water technology conference, (IWTC. 13),Hurghada,Egypt .

6. بادويلان ، احمد بن سالم .(2005) . معجزات وأسرار ماء زمزم . ط ، 3. دار الحضارة للنشر والتوزيع .

7. Dolgushin II,.,(2000). An evaluation of the effect of sodium bicarbonate-chloride mineral water on the rat immune system. VoprKurortolFizioter Lech FizKult .(4):13-4 .

8. كوشك، يحيى حمزة . (1983) . زمزم طعام طعم وشفاء سقم ، ط 1، دار العلم للطباعة والنشر ، جدة .

9. Reed, L.J.; and Muench, H. (1938) . A simple method of estimating fifty percent end point. A. J. Hyg., 27(3): 493-497.

10.الحاج ، حميد احمد . (1998) . التحضيرات المجهرية الضوئية ، التقنيات المجهرية . الطبعة الأولى. فالأردنية ، الحياتية . مركز الكتب الأردنية . الجامعة الأردنية ، عمان – الأردن : ص121 – 232 .

11. Rubin, E. & Reisner, H. M. (2009) . Essentials of Rubins Pathology. 5thed., P.2-162.Lippincott William & Wilkins .

12. Lindberg,R.;JohansenM.V.;Montrad,J.;christe n,N.andNassen,P. (1997). Experimental *schistosoma bovis* infection in goats : The inflammatory response in the small intestine and liver in various phases of infection and re infection .J.Parasitol.,83:454-459 .

13.خليفة ، سناء احمد والعلياني ، رحمة علي و العلواني ، عائشة داود . (2005) . دراسات نسجية وخلوية وكيميا نسجية لتأثير أبوال الإبل على كبد الأرانب المصابة ببكتريا القولون (ايشيريشيا كولاي) . المجلة السعودية للعلوم البايولوجية . 12 (2):66−80 .

14. Yousef, M. I.(2004). Aluminum induced changes in hematobiochemical Parameters, Lipid peroxidation and enzyme activities of malerabbits: protective role of ascorbic acid. Toxicology.215: 97-107 .

The study of histopathological lesions that induced by *Escherichia coli* bacteria in liver of white mice and treated with Zamzam water

Shereene Adel Ali , Aziz Khalid Hameed

(Received: 25/9/ 2012 ---- Accepted: 27/12/ 2012)

Abstract

The present study aimed to evaluate the histopathological lesions in the liver of white mice that appear when infected with *Escherichia coli* bacteria orally treatment in the laboratory and to use Zamzam water at two terms in two different time periods. Results showes that the bacteria *E. coli* cause major histological changes in the liver had been occurred Separation of endothelial cells from the lining of the central vein , Hemorrhage as well as bloody congestion, infelteration of inflammatory cells between cells and hepatic necrosis and hepatic cell degeneration. While histologic changes in the liver of mice treated with Zamzam water showed significant improvement in terms of the arrangement tapes hepatic and few cases of necrosis , hemorrhage .the results of treatment totals for the treatment for 10 days better than treated for 5 days in both groups therapeutic .