دراسة تأثير الثايروكسين والمستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور *Borago officinalis* في فعالية أنزيم الفوسفاتيز القاعدي في خلايا الدم البيضاء العدلة في ذكور الفئران البيضاء.

صباح ناصر العلوجي
قسم علوم الحياة
كلية العلوم/ جامعة بغداد

كوكب سليم القيسي
قسم التشريح
كلية الطب/ جامعة النهرين

داليا عبد اللطيف صبري
قسم علوم الحياة
كلية التربية ابن الهيثم/ جامعة بغداد.

الخلاصة

استهدف هذا البحث دراسة تأثير الثايروكسين والمستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور *Borago officinalis* (Borage) معاً وبمفردهما في الفعالية الانزيمية لإنزيم الفوسفتيز القاعدي Alkaline Phosphatase (ALP) داخل الخلايا العدلة.

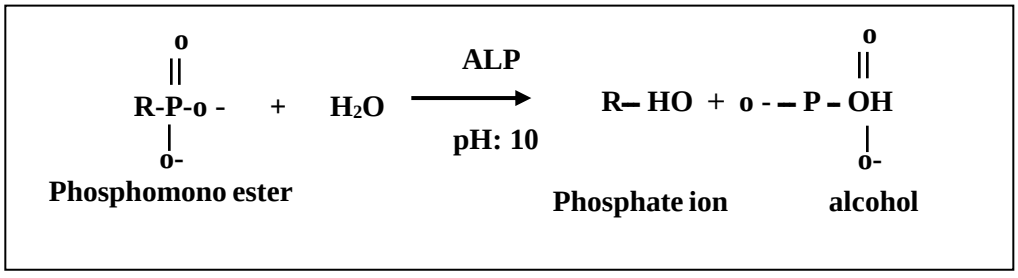
استخدم في هذه الدراسة 35 فأر من ذكور الفئران البيض السويسرية البالغة. وقسمت الحيوانات على قسمين رئيسيين يتضمنان مجاميع ثانوية بالنحو الآتي القسم الأول: يتضمن أربع مجاميع ثانوية عوملت لمدة 11 يوماً. وشملت المجموعة المعاملة بالثايروكسين G_1، التي حقنت بتركيز 0.2 ملغم/ كغم تحت الجلد. والمجموعة المعاملة بتجريع المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور G_2 بجرعة 0.5 مللتر وبتركيز مقدارهُ 6 غرام /100 مللتر، والمجموعة المعاملة بالثايروكسين والمستخلص المائي لورد لسان الثور معاً G_3، ومجموعة السيطرة G_4 التي حقنت 0.9 مللتر من الماء المقطر تحت الجلد. والقسم الثاني: يتضمن ثلاث مجاميع ثانوية معاملة لمدة 22 يوماً، وشملت المجموعة المعاملة بالثايروكسين لمدة 11 يوماً ثم أعطيت جرعة من المستخلص المائي لورد لسان الثور ولمدة 11 يوماً اخرى G_5، والمجموعة المعاملة بالثايروكسين لمدة 11 يوماً. ثم تركت بدون معاملة ولمدة 11 يوماً. اخرى G_6، ومجموعة السيطرة G_7 التي تلقت 0.9 مللتر ماء مقطر تحت الجلد.

وقد أظهرت النتائج زيادة في الفعالية الانزيمية لانزيم A LP داخل الخلايا العدلة بصورة شديدة لكل من G_1 وG_6 وفعالية متوسطة للانزيم في G_3 وفعالية طبيعية للانزيم في G_2 وG_4 وG_5 وG_7.

أُستنتج من هذه الدراسة أن الثايروكسين يؤثر في زيادة الفعالية الأنزيمية لانزيم الفوسفتيز القاعدي خلال أستحداث فرط نشاط للغدة الدرقية، في حين يستطيع المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور تثبيط التأثير الحاصل في هذا الأنزيم والعودة به الى المستويات الطبيعية.

المقدمة

ان أنـزيم الفوسـفتيز القاعـدي (ALP) Alkaline Phosphatase هـو Orthophosphoric-monoester، من مجموعة Phosphohydrolase (EC: 3.1.3.1.) حيث يكون هذا الانزيم من مجموعة الانزيمات التي لا ترتبط لتحفيز مادة تفاعل والتي اسها الهيدروجيني يتراوح ما بين 8.5–10 (1)، ويكون هذا الأنزيم غير فعال في الدم، إذ يعمل فقط عند الأس الهيدروجيني القاعدي للدم بوساطة شطر الفسفور وتوضح المعادلة الآتية طبيعة التفاعل الحاصل بفعل الانزيم:



وقد لوحظ أن الأس الهيدروجيني لأنزيم ALP يتراوح ما بين 8.5–10 وذلك لأنه يتأثر بنوع مادة التفاعل، وتركيزها، وحسب نوع الايزو انزيم في الجسم (12).

يوجد الأنزيم في أنسجة الجسم المختلفة وبمستويات متنوعة ومن بين الأنُسجة المصادر للـ ALP ذات النشاط أو الفعالية العالية وجوده بصورة رئيسة في الكبد ويسمى Isoenzyme ALP-1، حيث يتركز في الخلايا البرنكيمية، وفي العظم الناشيء يسمى Isoenzyme ALP-2، وفي خلايا اورمات العظم وفي الغشاء الطلائي للامعاء ويسمى Isoenzyme ALP-3، وفي المشيمة في الـ Surface of the Trophoplast Syncytium وفي الكلية في النبيبات الملتوية البعيدة وفي الرئة

وفـي الطحـال وأخيـراً هنـاك ALP خـاص بخـلايا الـدم البـيض ويسـمى (LAP) Alkaline Leuckocyte Phosphatase (17).

فيما يخص أنواع ALP أعلاه ما عدا LAP الخاص بخلايا الدم البيض العدلة فأن ما يقاس في المصل هو حاصل المقدار النهائي لفعالية الايزو انزيمات التي تتحرر من الأنسجة إلى الدم، وبسبب تباين الأس الهيدروجيني للـ ALP تعددت طرائق العمل لدراسة فعاليته، إذ عند الرجوع إلى تقنيات كيمياء النسُج Histochemical Techniques فإن طريقة الملح المعدني The Metal-Salt Procedure تفيد عادة في اس هيدروجيني مقداره 9، بينما في الطرائق المستعمل فيها صبغات الازو Azo-Dye تكون أكثر فائدة في الحالات ذات الأُس الهيدروجيني الاقل من 9 (6)، ولحد الان عرف القليل فقط من الوظائف البايولوجية للـ Phosphatases على الرغم من معرفة الكميات المنتشرة والمتوزعة لها في أعضاء ونسج الجسم المختلفة.

إن المدى الطبيعي لفعالية الـ ALP يعتمد على العمر ففي مرحلة النضوج للمراهق يحتاج كميات من ALP أكثر مما هي عليه في الشخص البالغ وتزداد فعالية الأنزيم في مصل الدم في حالاتٍ مرضية ويقل في حالاتٍ أخرى، فمثلاً تقل فعالية ALP في المصل في حالة نقص نشاط الدرقية، ويزداد مستواها في حالة فرط نشاط الدرقية حيث يعد من المعايير البايولوجية المهمة للقياس، وقد درس الباحثون بشكل موسع العلاقة بين زيادة ALP في المصل وحالة فرط نشاط الدرقية ومنهم (11).

أما بالنسبة للـ ALP في الخلايا العدلة وهو الاهم في دراستنا هذه اذ تحتوي خلايا الدم البيض العدلة الحبيبية أنزيم Alkaline Phosphatase Monoestrase ذا الفعالية الواسعة في الحالة الطبيعية والمهمة لدراسة الحالات المرضية المتعلقة بأمراض الدم من حالات أبيضاض الدم وغيرها، ويسمى عموماً LAP وأيضاً يسمى بالـ LAP Score فهو أنزيم متخصص للخلايا العدلة الحبيبية (23؛ 19).

ينتمي ALP الخاص بخلايا الدم البيض العدلة أيضاً لعائلة Alkaline Phosphatase Isoenzymes وينتج أيضاً من الشفرة الجينية التي تنشأ منها الأنواع الثلاثة للـ Serum AL السابقة وهي Liver / Bone / Kidney Type (L/ B/ K-Type) Isoform ، ويوجد ALP فضلاً عن الحبيبات النوعية بشكل بروتين في الغشاء البلازمي للخلايا العدلة أيضا (8)، ويظهر ALP في الانقسام الخيطي الأخير للخلايا الحبيبية بوصفه علامة مميزة ومتخصصة، ولا توجد شفرة تصنيع

الانزيم ALP في الحامض النووي الرايبي الرسول mRNA للخلايا الوحيدة والخلايا اللمفاوية بنوعيها البائية والتائية والأنواع الأخرى للخلايا البيض وتوجد في الخلايا العدلة فقط (17).

إنّ الفعالية الانظمية للـ LAP تُنّظم بأحكام وبمستويات متنوعة بوساطة الانواع المختلفة للجزيئات في الخلايا العدلة، وأن عوامل الجذب الكيميائي تشكل ALP وبسرعة من الحبيبيات الثانوية المتخصصة إلى الغشاء البلازمي حيث يتحفز ALP ويتحول إلى الشكل غير الفعال (البروتين) (5)، وتتغير الفعالية الأنزيمية للخلية العدلة باختلاف الحالات الفسيولوجية المرضية وان المستويات العالية للأنزيم في الخلايا العدلة لوحظت خلال الإصابات المختلفة والحمل وفي الحالات المتنوعة لابيضاض الدم الابتدائي وارتفاع العدلات ومرض هودكز ولوحظ ايضاً انخفاض مستوى A LP في أمراض عديدة منها Chronic Myeloid Leukemia (CML).

وتتطلب اغلب الـ Phosphatases ايونات المغنيسيوم التي تعمل منشطات لذلك يضاف بشكل تراكيز صغيرة من الـ Maganesium Sulphate. اذ يعد ايون المغنيسيوم Mg^{+2} من المنشطات المتخصصة لـ ALP بصورة عامة ولكل أنواعه فضلا عن ان الايونات الموجبة مثل المنغنيز Mn^{+2} والزنك Zn^{+2} والكوبالت Co^{+2} تعمل أيضا كمنشطات وبتراكيز قليلة جداً (15).

ينتمي نبات ورد لسان الثور Borage Plant المستعمل في هذه الدراسة إلى العائلة الحمحمية Boraginaceae ويسمى علميا *Borago officinalis* (L.) أو *Anchusa officinalis* (25) وللنبات أسماء عديدة إضافة إلى ورد لسان الثور منها الورد ماوي وحشرافة أو حمحم وغيرها، ويتوطن النبات في منطقة الشرق الأوسط وبعض أنحاء أوربا والولايات المتحدة (9) ويستعمل النبات بكامله من الساق والأوراق والأزهار للاستخدامات الطبية (16).

يحتوي نبات ورد لسان الثور على مواد كيميائية عديدة تتضمن حامض الروزمارنك والدباغيات، والهلام ومادة Supenedene Viridiflorate، كما ويحتوي أيضا على القلويات بمقدار 20% من نوع البايروليزيدين كما يحتوي على الصابونيات وحامض المالك وحامض اللبنيك وحامض السلسليك و Lycopsamin -1 و Lycopsamin و Supinin و Intermedin -Acetyl -7، أما بذور نبات ورد لسان الثور فتحتوي على الزيت الذي يعد من المكونات المهمة للنبات بسبب احتوائه على حامض Gamma- Linoleic Acid (GLA) الذي يعد من أهم مكونات النبات بصورة عامة وهو أساساً حامض شحمي يتركب من ستة أحماض شحميه متعددة غير مشبعة، ويحتوي الزيت على 47.2% من Linoleic Acid و23.1 % من Gamma-Linolenic Acid كما ويحتوي على الكثير من الفيتامينات والعناصر المعدنية (20)، وللنبات استعمالات وفوائد طبية عامة تتمثل في

استخدامه كمدرر ومسكن ومنظم للطمث ومحفز لبعض الغدد الصم (22) كما يستخدم النبات تقليدياً لتشيط القلب، وإزالة احتقان الرئة وزيادة أنتاج الحليب في المرأة المرضع وفي علاج حالات التهاب المفاصل الروماتيزمي وغيرها من الاستخدامات الطبية العديدة (16؛ 4)، ولا تزال البحوث في مراحلها الأولى في مجال الكشف عن الجرعات الفموية الناجحة من زيت ورد لسان الثور لعلاج حالات ارتفاع ضغط الدم والكوليسترول وحالات الربو وتنظيم عمل الهرمونات الجنسية وهرمون الحليب والهرمونات الاخرى.

ونظراً لأهمية هذا الأنزيم من الناحية الطبية ولما يسببه إفراز الثايروكسين عن الحد المطلوب من اثار عكسية عند مرضى فرط نشاط الدرقية ولفوائد المستخلص المائي الطبية العديدة في علاج العديد من الامراض والالتهابات وغيرها لذلك استهدف هذا البحث دراسة تأثير الثايروكسين والمستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور معاً وبمفردهما في الفعالية الانزيمية لإنزيم الفوسفتيز القاعدي ALP داخل الخلايا العدلة.

المواد وطرائق البحث

الاستخلاص:

استخدم في هذه الدراسة المستخلص المائي الخام Crude Aqueous Extract من اجل توفير طريقة علمية تطبيقية غير مكلفة اقتصادياً دون اللجوء إلى الطرائق المعقدة للاستخلاص، حيث تم استخدام الماء المقطر المغلي لاستخلاص المكونات الفعالة Active Ingredients لهذا النبات بطريقة التشرب بالماء الحار حسب الطريقة المستعملة من قبل (16)، وبدون غلي المادة النباتية، ثم حضر المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور بوضع 6 غرام من مسحوق المادة النباتية في وعاء زجاجي بعد إضافة 100 مللتر من الماء المقطر المغلي إليه ووضع في حمام مائي لاستمرار عملية التشريب لمدة تتراوح من 10-15 دقيقة، بعد ذلك رشح المستخلص الناتج بورقة الترشيح وترك ليبرد، ثم حفظ المستخلص المائي في درجة حرارة مقدارها 4م في أوعية زجاجية معتمة جاهزاً لاستعماله في التجارب اللاحقة.

حيوانات التجارب:

أستخدم في هذه الدراسة 35 فاراً من ذكور الفئران البيض السويسرية البالغة *Mus musculus* Mice تراوحت أوزانها مابين 24-28 غم، وقسمت الحيوانات على قسمين رئيسيين

يتضمنان سبعة مجاميع ثانوية متساوية كل مجوعة تتضمن 5 حيوانات ووضعت كل مجموعة في قفص منفرد وزودت بالماء والعليقة بشكل مستمر وبكميات كافية يومياً لحين إجراء التجربة.

A- المجاميع التجريبية المعاملة لمدة 11 يوماً

* **المجموعة المعاملة بالثايروكسين G_1:** حقنت هذه المجموعة بتركيز مقداره 0.2 ملغم/ كغم من وزن الجسم من الثايروكسين تحت الجلد (24) لمرة واحدة في اليوم لمدة 11 يوماً.

* **المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور G_2:** قبل البدء بتجريع هذه المجموعة كان الماء يرُفع يومياً قبل التجريع بحوالي 12 ساعة ثم يتم تجريع المستخلص المائي لورد لسان الثور بجرعة 0.5 مليليتر بوساطة انبوب فموي معدي وبتركيز 6 غم/ 100 مللتر كما جاء في (7) واستمر التجريع لمدة 11 يوماً.

* **المجموعة المعاملة بالثايروكسين والمستخلص المائي لورد لسان الثور معاً G_3:** حقنت المجموعة بالثايروكسين وبعد مرور خمس دقائق على الحقن تم تجريع الحيوانات فموياً بالمستخلص المائي لورد لسان الثور.

***مجموعة السيطرة G_4:** حقنت الحيوانات 0.9 مللتر من الماء المقطر تحت الجلد.

B- المجاميع المعاملة لمدة 22 يوماً

* **المجموعة المعاملة بالثايروكسين ثم بالمستخلص المائي لورد لسان الثور G_5:** تلقت المجموعة جرعة ثايروكسين تحت الجلد لمدة 11 يوماً، وعند انتهاء المدة جرعت المجوعة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور ولمدة 11 يوماً ايضاً.

* **المجموعة المعاملة بالثايروكسين ثم تركت بدون معاملة G_6:** أعطيت هذه المجموعة الثايروكسين تحت الجلد لمدة 11 يوماً ثم تركت بعدها الحيوانات لمدة 11 يوماً اخرى بدون معاملة.

* **مجموعة السيطرة G_7:** حقنت الحيوانات بـ 0.9 مللتر من الماء المقطر تحت الجلد مرة واحدة في اليوم لمدة 22 يوماً.

سحب الدم من الحيوانات بوساطة طعنة القلب ووضع الدم المسحوب في أنابيب مانعة للتخثر تم عمل مسحات دم على شرائح زجاجية نظيفة ووضعت هذه المسحات في حامل زجاجي خاص لهذا الغرض مليء بمحلول وسط الحضانة حتى غطيت كل الشرائح الزجاجية ثم وضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م لساعة من الوقت، عند انتهاء هذه المدة غسلت الشرائح بماء الحنفية الجاري لمدة دقيقتين بعد ذلك مليء الحامل الزجاجي بكلوريد الكوبالت 1% ولمدة خمس دقائق وازيل Rinse بوساطة ماء الحنفية الجاري حيث تركت فيه من 2- 5 دقائق وبعدها تركت لتجف (2)، ثم فحصت

الشرائح بالمجهر الضوئي تحت العدسة الزيتية بعد صبغها بصبغة ليشمان وتم حساب النسبة المئوية لأعداد خلايا الدم البيض العدلة بالنسبة لفعالية أنزيم الفوسفتيز القاعدي الى شديدة التفاعل ومتوسطه وطبيعية.

محلول وسط الحضانة لأنزيم الفوسفتيز القاعدي للخلايا العدلة (ALP):

حضر المحلول على حسب ما جاء في (2) وذلك بمزج 10 مل من B-Glycerophosphate بتركيز 1% و15 مل من Calicium Chloride بتركيز 2% و15 مل من Sodium Barbiton بتركيز 0.123% ذي اس هيدروجيني مقداره 8.2 و10 مل من Maganisium Sulphate (Hydrate) بتركيز 2%.

النتائج والمناقشة

تعد الخلايا العدلة الخط الدفاعي الأول للجسم (10) حيث أظهرت المجموعة المعاملة بالثايروكسين لمدة 11 يوماً فعالية عالية للإنزيم داخل سايتوبلازم الخلايا العدلة مقارنة بمجموعة السيطرة (الجدول، 1) و(الشكل، C،1) وزيادة في أعداد الخلايا العدلة الفعالة انزيمياً، وربما يعود السبب في ذلك إلى وجود مستقبلات للثايروكسين على سطوح الخلايا العدلة والذي يؤدي حقنه إلى زيادة الارتباط بهذه المستقبلات وتحفيز الخلايا العدلة ومن ثم زيادة فعالية الأنزيم وللتوصل إلى ذلك يحتاج منا إلى أجراء دراسات مستقبلية للكشف والتحري عن هذه المستقبلات.

يؤدي حقن الثايروكسين إلى حدوث تغيرات تنكسية في نسيج الغدة وقد يكون في اعضاء اخرى لذا فإن زيادة هذا الانزيم فضلاً عن زيادة أعداد الخلايا العدلة الفعالة انزيمياً هو رد فعل دفاعي لزيادة الالتهام ضد الضرر الناتج في خلايا النسيج والمتسبب عن حقن الثايروكسين، وهذه النتائج تشابه ما توصل اليه الباحثون (13؛ 18) والذين تطرقوا إلى دراسة الزيادة الحاصلة في مستوى ALP داخل الخلايا العدلة عند حدوث بعض الحالات المرضية منها الانيميا الحادة وأيضاً تطابق نتائج الدراسة هذه مع ما توصل اليه (3) من ان حقن T_3 بوسط زرعي لخلايا نقي العظم يؤدي إلى زيادة في أعدادها وأيضاً زيادة في الفعالية الأنزيمية لأنزيم الفوسفتيز القاعدي للنوع الخاص بالعظام Isoenzyme ALP Bone-2 وايضاً في داخل الجسم وان تأثير T_3 هو زيادة في تكسير البيتيد المتعدد المرتبط بالغشاء البلازمي للخلية العدلة وهو الشكل غير الفعال للأنزيم وتحويله إلى الشكل الفعال.

وبما أن حقن الثايروكسين قد ادى إلى زيادة في أعداد الخلايا العدلة الفعّالة انزيمياً هذا يجعلنا نعتقد ربما ان الثايروكسين قد يكون تأثيره بشكل مباشر في نقي العظم مما يؤدي إلى تحفيزه لزيادة

أعداد الخلايا العدلة، أو أن زيادة أعداد الخلايا العدلة جاء نتيجة لإفراز عوامل جذب من نسيج الغدة المتضرر مما أدى إلى جذب الخلايا العدلة وزيادة فعاليتها الانزيمية للدفاع عن الجسم إذ إن أنزيم ALP يتكون بسرعة من الحبيبات النوعية المتخصصة والذي يتم نقله إلى الغشاء البلازمي، وعندها يتحفز الأنزيم ويتحول إلى الشكل غير الفعال للأنزيم لخزنه داخل الخلايا العدلة والذي يكون بشكل متعدد البيتيد وعند الحاجة يفرز ويتحول إلى الشكل الفعّال إلى سايتوبلازم الخلايا العدلة، لذلك تظهر الفعالية الأنزيمية بشكل حبيبات كثيفة شديدة داخل السايتوبلازم (4؛ 5).

ولوحظ أنه من المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور لمدة 11 يوماً وكما مبين في (الجدول، 1) و(الشكل، A،1) قد أظهرت الخلايا العدلة فعالية طبيعية لأنزيم ALP داخل السايتوبلازم مقارنة بالسيطرة، وهذا يدل على أن المستخلص المائي لورد لسان الثور ليس له تأثيرات جانبية تحدث الضرر في أنسجة الجسم، مما لا يدعو إلى زيادة فعالية الخلايا العدلة أو زيادة أعدادها.

في حين أظهرت المجموعة التي عوملت بالثايروكسين والمستخلص المائي لورد لسان الثور معاً ولمدة 11 يوماً (الجدول،1) و(الشكل، B،1) وجود فعالية متوسطة للانزيم في داخل خلايا العدلة وأقل مما هي في المجموعة المعاملة بالثايروكسين فقط لمدة 11 يوماً والتي لوحظ فيها حصول فعالية شديدة للأنزيم داخل سايتوبلازم الخلايا العدلة، وربما يعود الانخفاض في فعالية الأنزيم إلى قابلية المستخلص المائي في معالجة الالتهابات وما يرافقها من أعراض مثل الحمى وغيرها (25) ومن خلال وجود GLA والدباغيات فأن قابلية الدباغيات في تحفيز الخلايا البلعمية على البلعمة لالتهام المتضرر من النسج من جراء حقن الثايروكسين كما وان لها القابلية على سرعة تكوين النسج وشفاء الجروح وشفاء التهاب الأغشية المخاطي كما جاء في (21)، وايضاً دور GLA في المستخلص المائي لورد لسان الثور في تثبيط فعل الثايروكسين المؤثر وبالتالي التخفيف من حدة التنكس الحاصل في الانسجة والإسراع من الإصلاح الخلوي مما يؤدي إلى انخفاض الفعالية الأنزيمية للخلايا العدلة.

أوضحت النتائج في (الجدول، 1) و(الشكل، A،1) ان المجموعة المعاملة بالثايروكسين لمدة 11 يوماً ثم بالمستخلص المائي لمدة 11 يوماً أخرى قد سجلت فعالية طبيعية للأنزيم داخل الخلايا العدلة مقارنة بمجموعة السيطرة، وهذا يشير الى فعل الدباغيات وGLA في المستخلص المائي لورد لسان الثور في تثبيط فعل الثايروكسين وعند المقارنة بين نتائج هذه المجموعة ونتائج المجموعة المعاملة بالثايروكسين لمدة 11 يوماً ثم تركت بعدها لمدة 11 يوماً دون معاملة فانها تشير إلى وجود فعالية عالية لأنزيم ALP داخل الخلايا العدلة مقارنة بما هو عليه في مجموعة السيطرة (الجدول، 1) و(الشكل، C،1)، من هذه النتائج نستطيع القول إن فعل الثايروكسين ما زال مستمراً حتى بعد التوقف

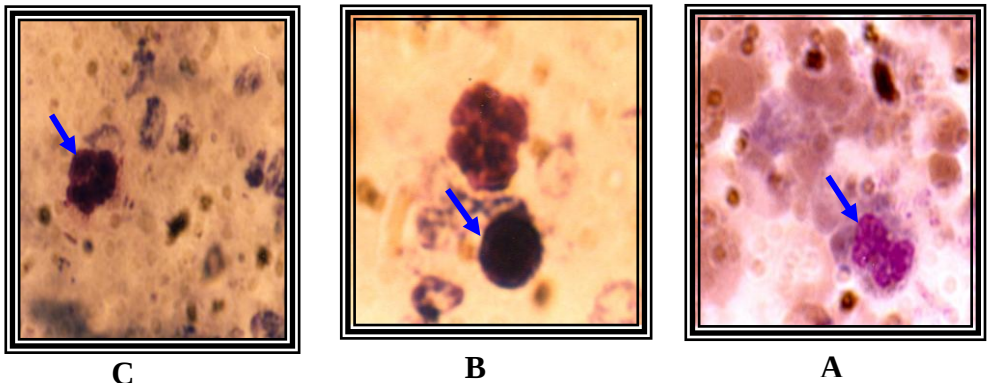
عن الحقن وقد يحتاج الجسم لاسترجاع حالته الطبيعية إلى مدة أطول من ذلك، في حين ان المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور قد يساعد على سرعة استرجاع الحالة الطبيعية للفعالية الانزيمية داخل الخلايا العدلة وقد يؤدي إلى سرعة الاصلاح الخلوي.

استنتج من هذه الدراسة ان الثايروكسين يؤثر في زيادة الفعالية الأنزيمية لأنزيم الفوسفتيز القاعدي من خلال استحداث فرط نشاط للغدة الدرقية في حين يستطيع المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور تثبيط التأثير الحاصل في هذا الانزيم والعودة به الى المستويات الطبيعية.

جدول (1): يبين التغيرات الحاصلة في فعالية أنزيم الفوسفتيز القاعدي(ALP) للخلايا العدلة في مجاميع الفئران المعاملة وفئران السيطرة.

Intensive	Moderate	Normal	المجاميع

A- المجاميع المعاملة لمدة 11 يوماً			
- السيطرة	++		
- المجموعة المعاملة بالثايروكسين			+++++
- المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور	++		
- المجموعة المعاملة بالثايروكسين والمستخلص المائي لورد لسان الثور معاً		+++	
B- المجاميع المعاملة لمدة 22 يوماً			
- السيطرة	++		
- المجموعة المعاملة بالثايروكسين ثم بالمستخلص المائي لورد لسان الثور	++		
- المجموعة المعاملة بالثايروكسين ثم تركت بدون معاملة			+++++



C **B** **A**

شكل (1): يبين صوراً بالمجهر الضوئي لمسحات دم يظهر فيها انزيم الفوسفتيز القاعدي (ALP) للخلايا العدلة كما يلي:

A : → فعالية طبيعية لأنزيم ALP داخل الخلية العدلة في كل من (G_2 ، G_4 ، G_5 ، و G_7).

B : → فعالية متوسطة لأنزيمALP داخل الخلية العدلة في كل من(G_3).

C: → فعالية شديدة لأنزيمA LP داخل الخلية العدلة وعلى شكل حبيبات (G) سوداء منتشرة في سايتوبلازم الخلايا العدلة في كل من(G_1 ، و G_6).

قوة التكبير X1000 (صبغة ليشمان)

المصادر

1. Bancroft, J. D. and Stevens, A. A .(1977). Theory and Practice of Histological Techniques. 1st ed, Churchill Livingstone, Edinburgh, London. 326-370.

2. Bancroft, J. D. and Stevens, A. A .(1982). Enzyme Histochemistry. In: J. D. Bancroft and A. A. Stevens (eds.). Theory and Practice of Histological Techniques. 2nd ed, Churchill Livingstone, Edinburgh, London. 379-405.

3. Banova, K. and Koren, E. (2000). Triiodothyronine stimulates the release of membrane-bound alkaline phosphatase in osteoblastic cells. Calcif. Tissue. Int. 67: 460-465.

4. Belch, J. (1992). Is there a role for natural remedies in rheumatoid arthritis. Scottish Medical Journal, 19(3): 357-365.

5. Borregaard, N.; Kjeldsen, L.; Sengelov, H.; Diamond, M. S.; Springer, T.; Anderson, H. C.; Kishimoto, T. and Bainton, D. F. (1994). Changes in subcellular localization and surface expression of L- selectin, alkaline phosphatase, and Mac-1 in human neutrophils during stimulation with inflammatory mediators. Journal of Leukocyte Biology. 56: 80-86.

6. Burstone, M. S. (1962). Phosphatase: In Enzyme Histochemistry and its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York and London. 160-218.

7. Garmot, S. F. (2004). Study the Effect of Crude Aqueous Extract of Some Medical Plants on the Contraction of Uterus and Abortion in Male Albino Mice. M. Sc. Thesis, college of Science for Girls, University of Baghdad.

8. Gianni, M.; Terao, M.; Zanotta, S.; Barbui, T.; Rambaldi, A. and Garattini, E. (1994). Retinoic acid and granulocyte–colony stimulating factor sinergistically induce leukocyte alkaline phosphatase in acute promyelocytic leukemia cells. Blood, 83: 1909-1921.

9. Gruenwald, J. (1998). PDR for Herbal Medicines. 1st ed, Medical Economics, Montvale. 695-977.

10. Highleyman, L. (2003). Monitoring Tests for People with HIV. Email address: liza@blackrose.com. :3-4, 16.

11. Kantor, R.; Pauzner, R.; Pali, E. and Farfel, Z. (1999). High alkaline phosphatase in subacute thyroiditis. Harefuad. 136(8): 599-602.

12. Kaslow, J. E. (2005). Alkaline Phosphatase. Internet address: www.drkaslow.com. :1-3.

13. Kojima, S.; Matsuyama, Y.; Kodera, Y.; Nishihira, H.; Ueda, K.; Shimbo, T. and Nakahata, T. (1996). Measurement of endogenous plasma granulocyte colony-stimulating factor in patients with acquired a plastic anemia by a sensitive chemiluminescent immunoassay. Blood. 87: 1303-1308.

14. Laboratory Corporation of America (2003). Leukacyte Alkaline phosphatase. Holding and Lexi Company Inc. USA. 1-2.

15. Moss, D. W.; Henderson, A. R. and Kachmar, J. F. (1987). Enzymes. In: N. W. Tietz (ed.) Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed, W. B. Saunders Company, Philadelphia. 346-421.

16. Newall, A. C.; Anderson, L. and Phillipson, J. D. (1996). Herbal medicines: A Guid for Health Care Professionals. The Pharmaceutical Press, London. 49-70.

17. Rambaldi, A.; Terao, M.; Bettoni, S.; Tini, M.L.; Bassan, R.; Barbui, T. and Garattini, E. (1990). Expression of leukocyte alkaline phosphatase gene in normal and leukemic cells: regulation of the transcript by granulocyte colony-stimulating factor. Blood. 76: 2565-2571.

18. Rambaldi, A.; Viero, P.; Bassan, R.; Buelli, M.; Bellavita, P.; Spinelli, O.; Amaru, R.; Micheletti, M. and Borlevi, G. (1996). G-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation of resistant or relapsing acute leukemias. Leukemia. 10: 860-865.

19. Rambaldi, A.; Masuhara, K.; Borleri, G.; Amaru, R.; Gianni, M.; Terao, M.; Barbui, T. and Garattini, E. (1997). Flow cytometry of leucocyte alkaline phosphatase in normal and pathologic leucocytes. British Journal of Hematology. 96: 815-822.

20. Reprotox Data Base: NOISE (2002). The heart of herbalism: knowing the herbs, reproductive toxicology center. Internet address: http://reprotox.org. 1-3.

21. Schulz, V.; Hansel, R.; Varro, E. and Springer, T. (2001). Rational Phytotherapy. A Physicians Guide to Herbal Medicine. 4th ed, New York.

22. Shamma, H. A. (2000). Optimal Health, Part 2-naturopathy, Phytomedicine and Nutrition Supplements. 1st ed, Washington, D.C. 304-307.

23. Tanaka, K. R.; Beutler, E.; Kaplow, L. S.; Plapinger, R. E. and Yoshida, A. (1984). Histo chemical Method for Leukocyte Alkaline phosphatase. NCCLS. 4(14): 1-7.

24. Tomanek, R.; Doty, M. and Sandra, A. (1998). Early coronary angiogenesis in response to thyroxin: growth characteristics and up regulation of basic fibroblast growth factor. Circ. Res. 82: 587-593.

25. U.S. Food and Drug Administration. (2004). *Borago officinalis* (Herbs and Supplements). Express Scripts, U. S.

Study the Effect of Thyroxin and the Aqueous Extract of Borage (*Borago officinalis*) on the Activity of Alkaline Phosphatase (ALP) in Neutrophils in Male Albino Mice

S. N. Alawchi

Department of Biology, College of Science, Baghdad University

K. S. Alkasiy

Department of Human Anatomy, College of Medicine, Al- Nahrain University.

D. A. Sabrei

Department of Biology, College of Education (Ibn AL-Haitham), Baghdad University.

Abstract:

This study was conducted to determine the effect of the thyroxin and the aqueous extract of Borage (*Borage officinalis*) a lone or when they are given together on the activity of leucocyte alkaline phosphatase (ALP) in neutrophils.

A total of 35 mature male Swiss albino mice was used in this study. Animals were divided them into two main groups as follows:

*** The First Group: this group contains four sub groups which were treated for 11 day.**

Animals weights were measured before the start of the experiments, and these sub groups were:

1. **A group treated via thyroxin (subcutaneous) (G_1) with concentration 0.2 mg/kg.**
2. **A group treated with administration with 0.5 ml of the aqueous extract of Borage (G_2) with concentration 6 gm/100 ml.**
3. **A group treated with thyroxin and Borage together (G_3).**
4. **The control group (G_4) which was injected with distilled water (subcutaneous) of dose 0.9 ml.**

*** The Second Group: this group contains three sub groups treated for 22 day.**

All the animals were weighted before experiments, and these sub groups were:

1. **A group treated with thyroxin for 11 day then treated with Borage for 11 day too (G_5).**
2. **A group treated with thyroxin for 11 day then the animals were left for 11 day too without any treatment (G_6).**
3. **The control group (G_7) which was injected with distilled water (subcutaneous) of dose 0.9 ml.**

At the end of the treatment period the results showed Intensive enzymatic activity of (ALP) in the neutrophils of the (G_1), and the (G_6). While a moderate activity was found in the (G_3). On other hand a normal activity of the enzyme was observed in the (G_2, G_4, G_5, and G_7).

We concluded from this study that the treatment with thyroxin induced hyperthyroidism of thyroid gland such the treatment lead to the appearance of an intensive enzymatic activity of (ALP) on the neutrophils, in the other hand the equeous extract of Borage could inhibit such effects of thyroxin on the (ALP) in the neutrophils.