*دراسة تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لدرنات السعد*rotundusCyperus* على الغدد اللبنية لإناث الجرذان دراسة كيميائية نسيجية مناعية وكيموحيوية

عبد الهادي صلال **هناء عناية** ما هود

كلية التقنيات الطبية /كوفة **كلية التربية / جامعة القادسية**

hhistology @ yahoo.com

الخلاصة

تم دراسة تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي لدرنات نبات السعد*rotundusCyperus*على نمو وتطور الغدد اللبنية في أناث الجرذان البيض أثناء مرحلة الحمل والرضاعة ، اظهرت تعبيرات مستقبلات الاستروجين والبروجسترون انخفاضا واضحا عند معاملة الحيوانات بالمستخلص الكحولي والمائي الحار وللحالات (الحمل والرضاعة) ففي الوقت الذي كان تعبير مستقبل الاستروجين والبروجسترون في الجرذان الحوامل لمجموعة السيطرة خلال مدة (10يوم ، 20 يوم) قويا (+++) انخفض عند الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي الحار لدرنات السعد ولمدة الحمل نفسها فقد اظهرت تعبيرا متوسطاً(++) بينما أظهر نسيج الغدة اللبنية للحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي تعبيرا ضعيفاً(+)، لمستقبلات البروجسترون والاستروجين اما نسيج الغدد اللبنية للجرذان المرضعة والمعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار فأنه لم يظهر أي تعبير لمستقبلات الاستروجين والبروجسترون (-) مقارنة بالسيطرة الذي اظهر تعبيرا ضعيفا لمستقبلات البروجسترون والاستروجين (+) . اما الدراسات الكيموحيوية فأظهرت ارتفاعا معنويا ($0<P.05$) في مستوى الكلوتاثيونوالكتاليز للمجاميع المعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار وانخفاضا معنويا في مستوى المالون دايالديهايد في مصل الجرذان في حالتي (الحمل والرضاعة) مقارنة بمجموعة السيطرة .

الكلمات المفتاحية: درنات السعد، مستقبلات الاستروجين والبروجسترون ،المالون داي الديهايد،الكلوتاثيون،الكتاليز.

بحث مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الثاني

المقدمة

إن أهم ما يميز اللبائن عن غيرها من الحيوانات امتلاكها الغدد اللبنية الخاصة بإنتاج الحليب لتغذية مواليدها بعد الوضع(9,17وتوصف الغدد اللبنية على أنها غدد جلدية محورة تتواجد في الذكور والإناث على حد سواء (19) وإن الأنسجة اللبنية موجودة في كلا الجنسين ولكنها تصبح وظيفية وتتطور بتأثير الهرمونات الأنثوية وخصوصا في المرحلتين الأخيرتين من الحمل ، أذ تقوم ظهارة الغدد اللبنية للإناث mammary epithelium بإنتاج الحليب وهذا الإفراز يتكون من *مواد* تتكون فقط من هذه الأنسجة(12,13) تعرّف الإنسان منذ قديم الزمان إلى كثير من النباتات والأعشاب الطبيعية التي تنمو برياً في بيئته المترامية الأطراف، ووجد أنّ كثيراً منها يفيد في الغذاء وقليلاً منها يصلح دواء، فضلاً عن توصله إلى معرفة كثير من خصائصها وتحديد فوائدها باستعمالها في الطب الشعبي وتراكمت لديه على مر العصور معرفة بالخصائص العلاجية لكثير منها(10) ، ومن بين هذه المستخلصات النباتية التي لها علاقة بإدرار الحليب ذلك عن طريق تأثيرها في نمو الغدد اللبنية وتطورها مستخلص الحبة السوداء (2) *Nigellasativa* ولا يقتصر ذلك على هذه النباتات وإنما يشمل نباتات عدة ومن عوائل مختلفة ، ومن هذه النباتات نبات السعد *Cyperusrotundus*.

المواد طرائق العمل

تحضير المستخلص الكحولي والمائي الحار :

تم تحضيره المستخلص بأُخذ 20 غم من مسحوق درنات السعد وتم استخلاص المواد منها بالتتابع بجهاز الاستخلاص المتتابع Soxhlet extractor في 200 مل من الماء المقطر، في حالة المستخلص المائي الحار و200 مل من الايثانول (95%) في حالة المستخلص الكحولي ولمدة 24 ساعة.

أجريت التجربة على أناث الجرذان البيض وكانت الحيوانات ناضجة جنسيا ومتقاربة في الوزن (180-250غم) وأعمارها تتراوح ما بين (12-15) أسبوع. وقسمت الحيوانات الى مجموعتين وكما يلي:-

الأولى مجموعة السيطرة Group Control

وتمثل حيوانات السيطرة وقد أعطيت الماء فقط شملت (20) جرذا قسمت الى أربع مجاميع ثانوية كل منها يتكون من خمسة جرذان رمز لها (C1، C2، C3، C4) أعتمادا على مدة الحمل (10يوم، 20 يوم) ومدة الرضاعة (10يوم، 20 يوم).

الثانية مجموعة المعاملة Treatment Group

المجموعة الأولى : Group I :- تمثل الجرذان المجرعة بالتركيز (200 ملغم/كغم) من المستخلص المائي الحار وشملت هذه المجموعة (40) جرذاً قسمت الى أربع مجاميع ثانوية كل منها يتكون من (10) جرذان رمز لها (A4,A3,A2,A1) اعتمادا على مدة الحمل (10يوم، 20 يوم) ومدة الرضاعة(10يوم، 20 يوم)

المجموعة الثانية :Group I1 :- تمثل الجرذان المجرعة بالتركيز(175ملغم/ كغم) من المستخلص الكحولي وشملت هذه المجموعة (40) جرذا قسمت الى أربع مجاميع ثانوية كل منها تتكون من (10) جرذان رمز لها (B1,B2,B3,B4) اعتمادا على مدة الحمل (10يوم ، 20يوم) ومدة الرضاعة (10يوم، 20 يوم).

تم تجريع الجرذان الأم عن طريق الأنبوب الفموي المعدي وكانت كمية المستخلص المعطاة هي 1مل/اليوم وبعد انتهاء مدة التجريع تم تخدير الحيوانات بالكلوروفورم ، ، واخذ دم من كل جرذ عن طريق طعنة القلب Cardiac puncture لغرض الدراسة الكيموحيوية

ثماستئصال الغدد اللبنية ، وثبتت النماذج في محلول التثبيت (فورمالين10%) ثم حضرت شرائح البرافين تبعا لطريقة (3) وتشمل عملية (الأنكار،الترويق،الارتشاح،الطمر،التقطيع)

التحليل الإحصائيباستخدام تحليل التباين الأحادي (one analysis of variance) وعند وجود الأختلافات المعنوية تجري المقارنات باستخدام اختبار(T-test)T(5)

النتائج والمناقشة

اولا- ظهرت تعبيرات مستقبلات الاستروجين والبروجسترون أنخفاضا واضحا عند معاملة الحيوانات بالمستخلص الكحولي والمائي الحار وللحالات (الحمل والرضاعة) ففي الوقت الذي كان تعبير مستقبل الاستروجين والبروجسترون في الجرذان الحوامل لمجموعة السيطرة خلال مدة (10يوم ، 20 يوم) قويا (+++) انخفض عند الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي الحار لدرنات السعد ولمدة الحمل نفسها فقد اظهرت تعبيراً متوسطاً(++) بينما أظهر نسيج الغدة اللبنية للحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي تعبيراً ضعيفاً(+)، لمستقبلات البروجسترون والاستروجين .

الشكل(1,2,3)

ا ان نسيج الغدد اللبنية للجرذان المرضعة والمعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار فأنه لم يظهر أي تعبير لمستقبلات الاستروجين والبروجسترون (-) مقارنة بالسيطرة الذي اظهر تعبيرا ضعيفا لمستقبلات البروجسترون والاستروجين (+) . الشكل(4,5,6)

من النتائج السابقة يتضح أن للمستخلص الكحولي والمائي الحار لدر لدرنات السعد تأثيرات معنوية ومحفزة لزيادة نمو وتطور الغالغدة اللبنية ويزداد عدد المستقبلات مع زيادة حجم الأنسجة بال نسبة لمستقبلات الاستروجين ، فأنها تزداد بزيادة تركيز الاالاستروجين ، بشرط أن يكون الحيوان ناضجا جنسيا، وكذلك يع يعمل الاستروجين على زيادة عدد مستقبلات البروجسترون في الغدد اللبنية و التي من المرجح أن تشارك الاستروجين و البالبروجسترون في التطور قبل الرضاعة، وإنتاج الحليب

(11,18,19)

ثانيا- الدراسة الكيموحيوية فأظهرت ارتفاعا معنويا (0<P.05) في مستوى الكلوتاثيونوالكتاليز للمجاميع المعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار وانخفاضا معنويا في مستوى المالون داي الديهايد في مصل الجرذان وللحالات (الحمل والرضاعة) مقارنة بمجموعة السيطرة .(جدول 1,2,3)

جدول (1) تركيز المالون داي الديهايد في مصل اناث الجرذان الغير معاملة و المعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار و لحالات الحمل والرضاعة.

المجاميع		M A D (µmol//L)	
مجموعة السيطرة	C1	1.160 ± 0.10	a
	C2	1.158 ± 0.4	b
	C3	1.147 ±0.15	c
	C4	1.143 ± 0.08	d
المجموعة المجرعة بالمستخلص الكحولي	B1	1.110 ± 0.07	a
	B2	1.080 ± 0.08	b
	B3	1.030 ± 0.05	c
	B4	1.010 ± 0.08	d
المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي الحار	A1	1.130 ± 0.07	a
	A2	1.125± 0.07	b
	A3	1.102 ± 0.05	c
	A4	1.102 ±0.075	d

فرق معنوي عند مستوى احتمالية (P < 0.05

جدول (2) تركيز الكلوتاثيون في مصل اناث الجرذان الغيرمعاملة و المعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار لدرنات السعد و لحالات (الحمل و الرضاعة)

المجاميع		G S H (µmol//L)	
مجموعة السيطرة	C1	3.08±0.24	a
	C2	3.07± 0.09	b
	C3	3.15±0.20	c
	C4	3.20±0.21	d
المجموعة المجرعة بالمستخلص الكحولي	B1	3.22± 0.18	a
	B2	3.26±0.10	b
	D3	3.35 ± 0.30	c
	B4	3.40± 0.16	d
المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي الحار	A1	3.12± 0.03	a
	A2	3.16± 0.17	b
	A3	3.25± 0.17	c
	A4	3.30± 0.16	d

جدول (3) تركيز انزيم ال (Catalase) في مصل اناث الجرذان الغيرالمعاملة و المعاملة بالمستخلص الكحولي والمائي الحار لدرنات السعد ولحالات (الحمل و الرضاعة)

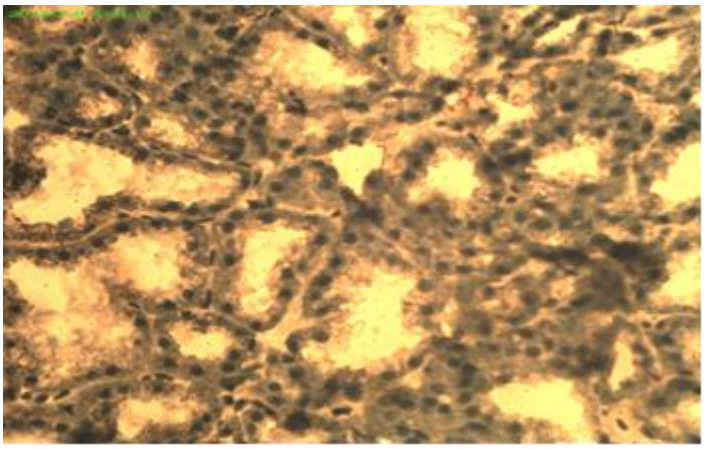
المجاميع		Calalase (µmol//L))	
مجموعة السيطرة	C1	0.70± 0.14	a
	C2	0.68± 0.07	b
	C3	0.7±6 0.04	c
	C4	0.78± 0.12	d
المجموعة المجرعة بالمستخلص الكحولي	B1	0.78± 0.11	a
	B2	0.81±0.0.09	b
	B3	0.86± 0.07	c
	B4	0.88±0.08	d
المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي الحار	A1	0.74± 0.14	a
	A2	0.76±0.4	b
	A3	0.80±0.16	c
	A4	0.82±0.07	d

فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$)
الأرقام تمثل المعدلات ± الخطأ القياسي
الحروف الصغيرة المتشابهة تمثل وجود فروق معنوي

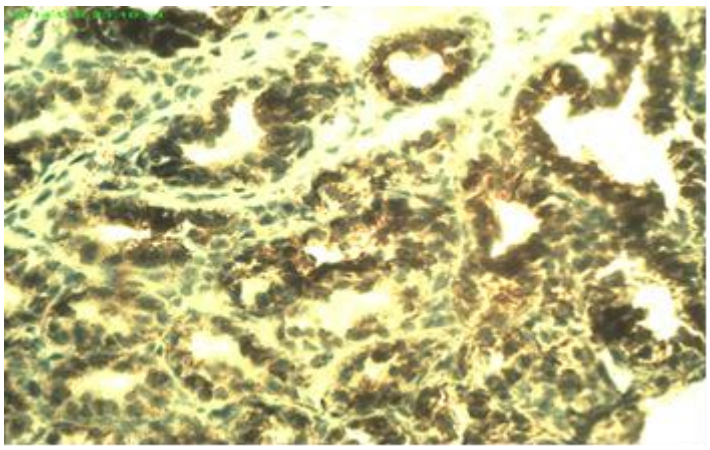
هذا الانخفاض في المالون داي الديهايد والزيادة في مستوى (G S H) و الـ (Catalase) ، يمكن أن يعزى الى أن المستخلصات النباتية لها فعل مضاد للأكسدة ، بسبب وجود مركبات الفلافونويدات Flavonoids (Compound) والمركبات الفينولية (Phenolic Compounds)

(1,6,7,14,15)وان الوجود الحر لمجموعة الهيدروكسيل في ال (Phenolic Compounds) هي المسؤولة أساساً عن النشاط المضاد للأكسدة.(16) اضافة الى وجود مادة الصابونين في المستخلص النباتي و الذي يعمل كمضاد للأكسدة الخلوية

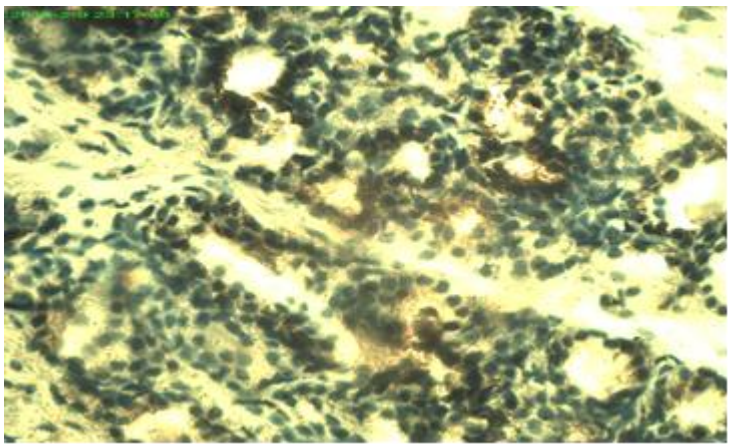
(4)



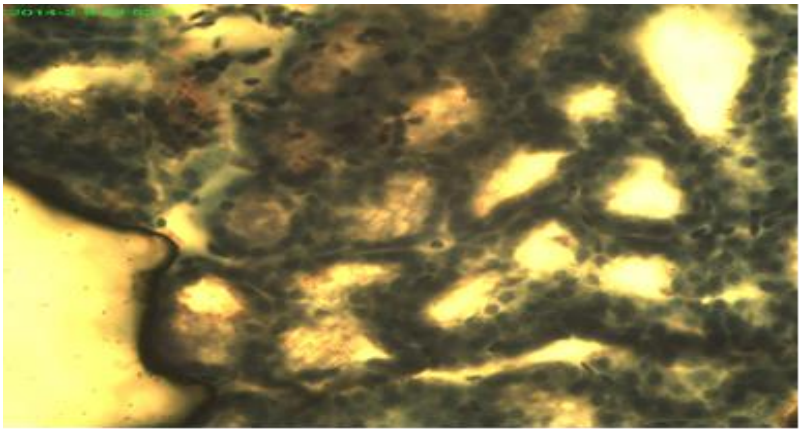
شكل(1) مقطع في نسيج الغدة اللبنية لأنثى جرذ حامل غير معاملة (سيطرة) يظهر فيها تعبيرا قويا (+++) لمستقبلات (PR , ER



الشكل (2) مقطع في نسيج الغدة اللبنية لأنثى جرذ حامل معاملة بالمستخلص المائي الحار لدرنات السعد يظهر تعبيرا متوسطا (++) لمستقبلات (PR , ER)

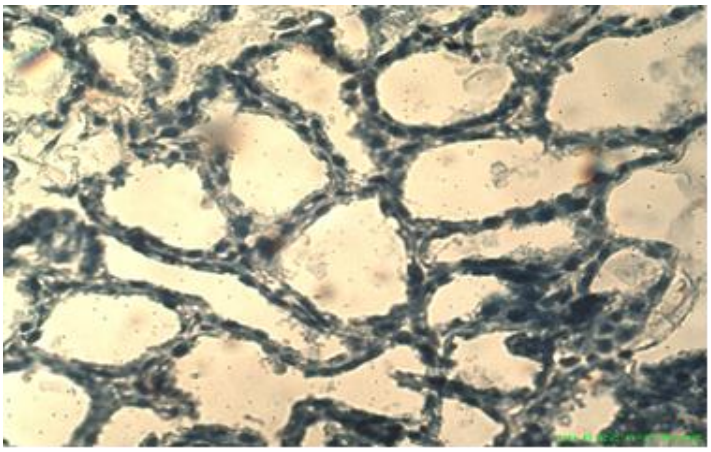


الشكل (3) مقطع في نسيج الغدة اللبنية لأنثى جرذ حامل معاملة بالمستخلص الكحولي لدرنات السعد يظهر فيها تعبيرا ضعيفا (+) لمستقبلات (PR , ER) .



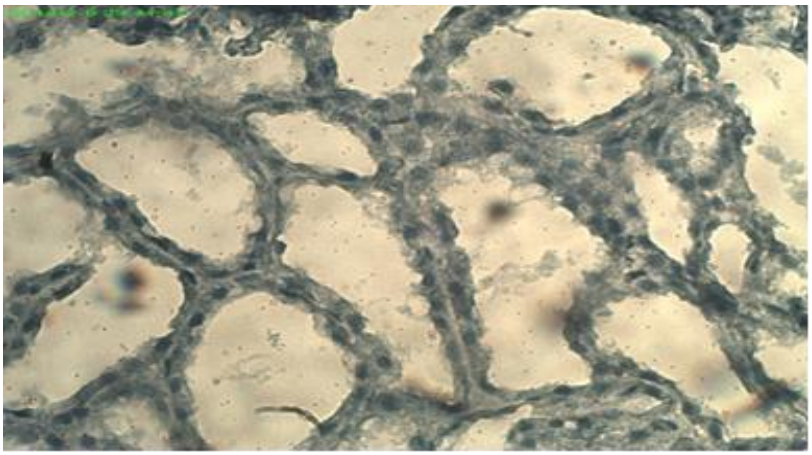
الشكل(4) مقطع في نسيج الغدة اللبنية لأنثى جرذ مرضع غيرمعاملة (سيطرة) يظهر فيها تعبيرضعيفا (+) لمستقبلات

PR , ER



الشكل (5) مقطع في نسيج الغدة اللبنية لأنثى جرذ مرضع معاملة بالمستخلص المائي الحار لدرنات السعد

لا يظهرفيها وجود تعبير(-) لمستقبلات PR , ER))



الشكل (6) مقطع في نسيج الغدة اللبنية لأنثى جرذ مرضع معاملة بالمستخلص الكحولي لدرنات السعد لا يظهر فيها وجود تعبير(-) لمستقبلات PR , ER))

Refrence

1-Arumugam, P. ; Ramamurthy, P. ; Santhiy, S. and Ramesh, A. (2006). Antioxidant activity different solvent fractions obtained from menthe spicata Linn.: An analysis by ABTS(+) decolorization assay. Asia pacific J. of Clin. Nutri., 15 (1) : 119-124.

2-Baraaj,H.(2006) . Effect of *Nigella Sativalseed on the histology* structure and function of mammary gland s of Norwegain white rat.

3-Bancroft, J. and Steven, A. (1982). Periodic acid – Schift technique In [Theory and practice of Histological Techniques] Bancroft, J, and Steven, A. (Ed.S), 2nd ed., Churchill Livingstone.189 , 370.

4-Bicudo L. ;Muradian A. ; Vanderlinde D.W. and Sasaki R. (2000). Provitamin activity of raw and cooked Brazilian leavesCiencTechnolAlimen. ; 20: 21-27 .

.

.

5--Daniel,W.W.(1987). Hypothesis testing In. Biostatistics ,A.Foundation for analysis in the Health sciences,Londo: pp, 161-205

.

6--Hussain, A. (2009). Characterization and biological activate of essential oil of some species of lamiaceaPh.D. University of Agriculture, Faisalabad, Pakista

7-Fodal, M. ; El-Sayed M. ; Hassan, A. ; Rasmy, N. and El-Moghazy, M. (2010). Effect of spearmint on chemical composition and sensory propertiesessential oil of white cheese.J.American.Sci., 6(5) :272-279.

8-James, A. ; Osaka, k. & Walter , A. (1999). Hormonal development of mammary gland in rats , journal of american dairyscience , 874 :884.

9-Leeson, C.; Leeson, T.& Paparo, A. (1985)" Textbook of Histology" W.B. Saunders, Philadelphia.

10-Laurence, D. R. & Bennett, P. N. (1990). Clinical pharmacology, 6th ed.English Language book society, 193-197.

11-Manalu, W. ; Sumaryadi, M.; Sudjatmogo, Y. & Satyaningtijas, A . (1999). Mammary gland differential growth during pregnancy in superovulated Javanese thin-tail ewes , Small-Ruminant-Research ,279-284.

12-Mariano, S.H.(1981). Atlas of Human histology, 2th edp.Iea&febiger , Philadelphia, USA.

13-Medine, D.(1996). The mammary gland : a unique organ for the study development and mmorignesis. J. Mammary gland Biol. Neoplasia , (1):pp. 5-19. Metab 20: 1 –14.

14-Padmini, E. ; Prema, K. ; Vijaya ,B. &Usha, M.(2008a). Comparative study on composition and propertiesof mint and black tea extract Int J Food Sci and Technol;43(10):pp,1887-1889.

15-Padmini, E. ; Usha ,M. &Lavanya, S.(2008b) Effect of

mint and tea infusions on the antioxidant capacity ofpreeclamptic endothelial MicrobiolBiotechnolEnviro cells.Asian.J.Sci.10:pp,903-909..

16- Padmini, E.&Lavanya, S.(2009). In vitro studies on the activity of glutathione peroxidase in preeclamptic endothelial cell with mint tea extracts. Biomed.; 29:pp165-169 .

,

17-Vorbach,c. ; Mario,R.& Josef,M.(2006). Evolution of the mammary gland form the innate immune system . Bio essays 28,:PP, 606-616.

18-Zinser, G.M & Welsh, J.(2004). Accelerated mammary glanddevelopment during pregnancy and delayed postlactational involution in vitamin D3 receptor null mice. MolEndocrinol 18,PP: 2208–2223.

19-Wang, X. J., Bartolucci, E., Fenton, S. E., & You, L. (2006). Altered mammary gland development in male rats exposed to genistein and methoxychlor. Toxicol Sci 91,:PP 93-103 .

*Study the effect of aqueous extract of hot and alcoholic Saadtubers*rotundusCyperus* on the mammary glands of female rats Immunohistochemical and Biochemical study

Hanaa Enaya Abdul Hadi Salal

Abstract

the present study is designed to focuson the effects that can be performed by the alcoholic extract and waterhotfor the planttubersSaad**Cyperusrotundus**inincreasingthegrowth and development of the mammary glands in female rats during the stages of pregnancy and lactation . .
it hasshowed expressions of estrogen and progesterone receptorsacleardecreasewhen the animalstreated byalcoholextractandthehot aqueousextractand cases (Pregnancy andlactationAt a time when thetheexpression ofrecipientestrogen and progesterone in pregnant rats during the period (10 days, 20days) were ،strong
(+ + +),Dropped when the animals treated for hot aqueous extract ubers Saad and duration of the pregnancy itself showed a moderate expression (+ +), while showed mammary gland tissue of animals treated alcoholextractweak expression (+)The fabric of the mammary glands of lactating ratswhich treatedbyalcoholextractandhotaqueous extract ،it did not show any expression of estrogen and progesterone receptors (-) comparedingwithto control (+) either biochemical studiesTestsshowedsignificantlyincreased(p< 05.0) In the level of catalaseandGlutathiontotalsfor the treatment of alcohol andhot aqueous extractand a significant decrease in the level ofMalondialdehydein the serum of rats and situations (pregnancy and lactation) compared to the control group .

Key world: estrogen , progesterone, Malondialdehyde, Glutathion,catalase.

The Research is Apart of PH.D Dissertation in the case of the second researcher .