مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (5) العدد (3) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

دراسة التأثير العلاجي للمستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم في مرض الكبد الدهني اللاكحولي المستحدث برابع كلوريد الكربون في الفئران ومقارنته بالأتورفاستاتين

محمد دريوس *
ريم سلامه **
يوسف أسعد ***

(تاريخ الإيداع 11 / 5 / 2020 . قُبل للنشر 11 / 7 / 2021)

الملخص

هدفت الدراسة إلى اختبار التأثير العلاجي للمستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم في مرض الكبد الدهني اللاكحولي المستحدث في الفئران البيض وتحديد بعض التغيرات الكيميائية الحيوية والنسيجية المرافقة لذلك .

أجريت الدراسة على 40 فأر في أربع مجموعات متساوية، حقنت فئران المجموعات التجريبية على التوالي كالآتي: الأولى (الشاهدة) بالمحلول الفيزيولوجي NACL بتركيز (0.9%) ، والثانية بجرعة واحدة من رابع كلوريد الكربون ccl4 (1مل/كغ) لاستحداث التشحم، والثالثة بنفس الجرعة السابقة من ccl4 وبجرعات يومية من المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم لمدة 10أسابيع (250 ملغ/ كغ من وزن الجسم)، والرابعة داخل الصفاق لمرة واحدة فقط بجرعة من ccl4 (1مل/كغ) مع جرعات يومية من الأتورفاستاتين (250 ملغ/ كغ من وزن الجسم) لمدة 10أسابيع .

أظهرت نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في متوسطات قيم كل من (TG الشحوم الثلاثية، ناقلة الأمين الآلانية ALT) في فئران المجموعة الثانية بالمقارنة مع الشاهدة، كما أظهرت النتائج انخفاض معنوي ($p<0.05$) في متوسطات القيم السابقة في فئران المجموعتين الثالثة والرابعة بالمقارنة مع المجموعة الثانية .

بينت نتائج الدراسة النسيجية لأكباد فئران المجموعة التجريبية الثانية ظهور تشحم واضح وصل في بعض الاحيان لدرجة التنخر، في حين أظهرت نتائج أكباد فئران المجموعتين الثالثة والرابعة تحسنا واضحا في الخلية الكبدية بالمقارنة مع المجموعة الثانية، حيث كان التشحم بحدوده الدنيا وهذا مايؤكد الدور العلاجي المهم لمستخلص أوراق شوك مريم بمكوناته الفعالة ضد مرض التشحم الكبدي اللاكحولي .

الكلمات المفتاحية: الكبد، رابع كلوريد الكربون، الكبد الدهني اللاكحولي، المستخلص الكحولي لأوراق شوك مريم .

* أستاذ في قسم علم الحياة الحيوانية من كلية العلوم بجامعة تشرين
** مدرس في قسم كيمياء العقاقير من كلية الصيدلة بجامعة تشرين
*** طالب دراسات عليا (دكتوراه) في قسم علم الحياة الحيوانية من كلية العلوم بجامعة تشرين

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (5) العدد (3) 2021

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

Study of the therapeutic effect of an alcoholic extract of Silybum marianum leaft on non-alcoholic fatty liver disease caused by carbon tetrachloride in albino rats and its comparison with atorvastatin

Mohamed Dreous*
Reem Salameh **
Youssef Asaad***

(Received 11 / 5 / 2020 . Accepted 11 / 7 / 2021)

Abstract

The study aimed to test the therapeutic effect of the alcoholic extract of Silybum marianum leaf on non-alcoholic fatty liver disease induced in white mice and to identify some of the biochemical and histological changes associated with that.

The study was conducted on 40 mice in four equal groups. The mice of the experimental groups were respectively injected as follows: The first (control) with NACL physiological solution (0.9%), The second group were injected with a single dose of ccl4 (1 ml/kg) to induce lubrication, The third group was injected with the same previous dose of ccl4 and daily doses of the alcoholic extract of the leaves of the Gundelia tournefortii plant for 10 weeks (250 mg/kg of body weight), The forth group were injected intraperitoneally only once with a dose of ccl4 (1 ml/kg) and with daily doses of Atorvastatin (250 mg/kg body weight) for 10 weeks.

The results of the biochemical study showed a significant increase ($p<0.05$) in the average values of (TG, ALT) in the second group compared with the control, and the results also showed a significant decrease ($p<0.05$) in the averages of the previous values in the third group and the fourth compared with the second group.

The results of the histological study of the livers of mice of the second experimental group showed the emergence of clear lubrication, which some cases reached the point of necrosis, while the results of the livers of mice of the third and fourth groups showed a clear improvement in the hepatic cell compared with the second group, where fat was minimal and this confirms the important protective role of Gundelia tournefortii extract with its active ingredients against the nonalcoholic lipidosis.

Keywords: liver, carbon tetrachloride, nonalcoholic fatty liver, alcoholic extract of Silybum marianum leaves.

مقدمة :

اهتم الإنسان منذ القدم بالنباتات الطبيعية التي استخدمت كوسائل علاجية للكثير من الأمراض ، وازداد الاهتمام بها كثيراً في السنوات الأخيرة نظراً لأهميتها بسبب غناها بالمركبات الكيميائية الفعالة وبماتحتويه من مضادات الاكسدة الضرورية للحد من الأضرار الناجمة عن حالات التسمم والتشحم الكبدي والاجهاد التأكسدي وتشكل الجذور الحرة [1] . [2]

ينتمي نبات شوك مريم *Silybum marianum* إلى الفصيلة المركبة Asteraceae ، يوجد بصورة برية في منطقة حوض البحر المتوسط وأوروبا ، تحتوي بذور نبتة شوك مريم على مركب البيوفلافونيدات Bioflavonoid المعروف بالسليمارين Silymarin (المكون من السليبينين Silybinin والسلديانين Silidianin والسلكرستين Silicristin والـ Polyacetylenes) تتراوح نسبتها ما بين 1 – 6 % من وزن النبات [3] وتتعلق نسب وجودها في تركيب النبات بالظروف المناخية المحيطة وبالتوزع الجغرافي لها ، وهو المسؤول عن الفوائد الطبية للنبات ، إذ أنه يجدد خلايا الكبد المتضررة بأمراض متعددة مثل التشحم [4] .

يُستخدم نبات شوك مريم في معالجة حالات الإكتئاب، وأمراض الكبد الناجمة عن تناول الكحوليات ، أو السموم المختلفة [5] . مقدرته عالية لكبح جماح التليف الذي يسعى للإضرار بالكبد كحالات الكبد الالتهابية الناتجة عن تناول الكحوليات ، او الالتهابات المتكررة ، أو الناجمة عن تناول مركبات الكربون الرباعية ، أو العلاج الكيميائي أو الاشعاعي [6] . يُحسّن نبات شوك مريم من عمل الصفراء ويخفض مخاطر تشكل حصى المرارة ، كما أنّه يحمي الكبد من الآثار الضارة لبعض أنواع الأدوية [7] .

يعرف مرض الكبد الدهني غير الكحولي بأنه تراكم للدهون في الأنسجة الكبدية بنسب تتراوح بين 5% لـ 10% من وزن الكبد العام وذلك في حالة عدم التناول المفرط للإيثانول ويشير هذا المرض إلى مجموعة عديدة من الاضطرابات التي لها صلة به بدءاً من التنكس الدهني البسيط والتهاب الكبد الدهني وصولاً للتليف الكبدي المتقدم وتشمع الكبد [8] ، يلعب الكبد الدهني والتراكم الكبدي للغليسيريدات الثلاثية دورا أساسيا في تفاقم الاضطرابات الاستقلابية المختلفة كالسمنة، وداء السكري ومرض مقاومة الأنسولين، وارتفاع ضغط الدم [9] ، وقد أشارت الدراسات مؤخرا إلى مخاوف حول مرض التشحم الكبدي اللاكحولي، إذ قد يشكل أحد عوامل الخطر المؤهبة للإصابة بسرطانات قد تتعدى نطاق الكبد وتحصل خارجه[10].

يعرف الأتورفاستاتين بـ 3–هيدروكسي3–coenzyme A – metylglutaryl وهو مثبط يقوم بالتقليل من مستويات الدهون بشكل عام، وقد بينت الدراسات التي أجريت على مجموعة من المرضى المصابين بمرض الكبد الدهني اللاكحولي بأنه يثبط ارتفاع الدهون ويخفض من مستوى الكوليسترول ،ويعالج دهون الكبد المستحدثة عند فئران التجربة [11] . (TG الشحوم الثلاثية، ناقلة الأمين الآلانية ALT)

أهمية البحث وأهدافه :

تأتي أهمية هذه الدراسة في أنها تبحث في الكشف عن بعض تأثيرات المكونات الفعالة لمستخلص أوراق نبات شوك مريم والتعرف على دورها العلاجي في بعض الاضطرابات المتعلقة بوظائف الكبد (كمرض التشحم الكبدي) كما أنها تلقي الضوء على بعض التغيرات المرافقة له من خلال الكشف عن بعض المعايير الكيميائية المخبرية

والتأكيد على إمكانية الاستفادة من موادها الفعالة في مجال الصناعات الدوائية ومقارنتها مع العقار الدوائي الاتورفاستاتين المستخدم لعلاج الشحوم .

تهدف هذه الدراسة إلى الآتي:

1.تحديد مستويات كل من (الغليسيريدات الثلاثية TG ,ALT ناقلة الأمين الآلانية) في الفئران البيض المستحدث فيها مرض التشحم الكبدي اللاكحولي .

2.اختبار الفعل العلاجي للمستخلص الكحولي المحضر من أوراق نبات شوك مريم في الفئران المستحدث فيها مرض التشحم الكبدي اللاكحولي من خلال تحديد مستويات المعايير السابقة الذكر .

3.مقارنة تأثير الأتورفاستاتين مع المستخلص النباتي في فئران التجربة المستحدث فيها مرض التشحم الكبدي اللاكحولي .

4.دراسة التغيرات النسيجية لكبد الفئران المستحدث فيها التشحم الكبدي ومقارنتها مع التغيرات النسيجية لأكباد الفئران المعالجة مع كل من المستخلص الكحولي لأوراق شوك مريم والأتورفاستاتين كل على حدة .

طرائق البحث ومواده :

1 –تحضير المستخلص الكحولي لشوك مريم :

تم تجفيف الأجزاء الهوائية من أوراق النبات في الظل عند درجة حرارة الغرفة ثم طحنت إلى مسحوق ناعم في مطحنة ميكانيكية. واستخلص المسحوق منها، ثم مزج (30 غ) من المسحوق مع (. 300 مل) من الايتانول 95%) وترك لمدة 72 ساعة باستخدام طريقة النقع. ثم رشَح المنقوع باستخدام ورق الترشيح Whatman (رقم 1) ، ثم جففت بواسطة المبخر الدوار [12].

2– تحضير المحاليل :

حضر محلول الحقن بحل 250 ملغ من الخلاصة في 10مل من مزيج مكون من (ماء مقطر، DMSO TWEEN 20) بنسبة (8 1 1) ، حقنت الفئران بالمحلول في الصفاق بجرعة قدرها 1ميكرولتر لكل غ من وزن الفار .

3 – تحضير تراكيز رابع كلور الكربون :

تم مزج حجم من رابع كلوريد الكربون مع حجم مساو له من زيت الزيتون، ثم حقنت جرعة واحدة منه بمقدار(1مل/كع) من وزن الفأر (تركيز ccl4 فيه 50%) [13].

طريقة العمل :

قُسمت فئران التجربة إلى أربع مجموعات ، ضمت كل مجموعة (10) فئران ذكور(كون أغلب الأبحاث على الذكور) ، بعمر (3–4) أشهر ، وتراوحت أوزانهم بين (20– 25غ) وتُنسب الفئران المستخدمة في التجربة إلى السلالة (Balb / c)، حيث تم إحضارها من قسم التقانة الحيوية في هيئة الطاقة الذرية، وضعت الحيوانات في مخابر قسم علم الحياة الحيوانية – جامعة تشرين، لمدة 2–3 أسابيع قبل بدء التجربة من أجل التكيف مع الظروف

المناسبة مثل الضوء ودرجة الحرارة (18–20 درجة مئوية) . حقنت الفئران كالآتي : (الاولى أو **الشاهدة** بـ(0.05 مل) من المحلول الفيزيولوجي (0.9٪) فقط ولمدة 10 أسابيع، الثانية بجرعة واحدة من ccl4 (1مل/كغ) لاستحداث التشحم وتركت مدة 24 ساعة قبل العمل ، وحقنت فئران المجموعة التجريبية الثالثة داخل الصفاق بجرعتين مختلفتين الأولى بجرعة واحدة من ccl4 (1مل/كغ) ، والثانية بجرعة من المستخلص الكحولي لنبات شوك مريم (مقدار الجرعة 250 ملغ / كغم من وزن الجسم) لمدة (10) أسابيع، وحقنت أيضا فئران المجموعة التجريبية الرابعة جرعتين مختلفتين الأولى من ccl4 (مقدار الجرعة 1 مل/كغ) لمرة واحدة فقط، والثانية من العقار الدوائي الاتورفاستاتين(مقدار الجرعة 250 ملغ / كغ من وزن الجسم) ولمدة 10 أسابيع .

جمع عينات الدم والكبد :

بعد الانتهاء من التجربة ، تم تخدير الحيوانات عن طريق وضع قطنة مبللة بالايتر الايتيلي على الانف مباشرة لمدة خمس دقائق، ثم تم سحب الدم مباشرة بطعن القلب بإبرة حقن 5 مل ، وضع الدم في أنابيب اختبار جافة وترك للتخثر تلقائيا بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة ثم وضع للتثفيل لمدة 15 دقيقة بسرعة 3000دورة / دقيقة (مثفلة Hettich في مخبر علم الحياة الحيوانية)، جمع المصل بعدها في أنبوب ابندروف مرقم مسبقا، وحفظ المصل بدرجة 4 درجة مئوية لحين إجراء المعايرات الخاصة بمعايير التجربة وهي (ALT, TG,) في جهاز سبيكتروفوتوميتير، شرحت الفئران بعدها وتم إزالة الكبد من المجموعات التجريبية الأربعة ، وحفظت في عبوات خاصة مرقمة وحاوية على الفورمالين 10٪ من أجل إتمام الدراسة النسيجية (مكان إجراء الدراسة مشفى تشرين الجامعي) .

الدراسة النسيجية :

حضرت أكباد الحيوانات التجريبية وعولجت بالكحول التجاري والكحول المطلق والزيلين ، ثم تم تثبيتها بقوالب البارافين. تم عمل مقاطع نسيجية بسماكة (5) ميكرون باستخدام قطاع الأنسجة (Meditome A 550) ، ثم عوملت بمحلول الكحول والزيلين تمهيدًا لتلوينها بالهيماتوكسيلين – يوزين وفقًا لطريقةMaity [14] . درست المقاطع النسيجية باستخدام مجهر ضوئي مزود بكاميرا رقمية ومتصل بجهاز كمبيوتر بهدف التعرف على الصورة النسيجية في أكباد الفئران السليمة والمعالجة تحت تأثير الجرعات المختلفة من المستخلص الكحولي لاوراق نبات السلبين ورابع كلوريد الكربون .

التحليل الإحصائي :استخدم برنامج Statistical Package For Social Sciences (SPSS) للقيام بعملية التحليل الإحصائي واستخلاص النتائج ، واتُبعت الأساليب الإحصائية الآتية : المتوسطات الحسابية والأخطاء المعيارية ، تحليل التباين الأحادي one way anova للمقارنة بين المتوسطات، اختبار ستودنت ، اختبار LSD5 عند مستوى 5% للمقارنة بين متوسطات المعايير المدروسة لمختلف المجموعات .

النتائج والمناقشة :

1-نتائج الدراسة الحيوية الكيميائية :

1-1 دراسة تأثير كل من المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم والأتورفاستاتين، مقارنة مع المجموعة الشاهدة والمجموعة المستحدث فيها التشحم فقط .

- **معيار TG:**

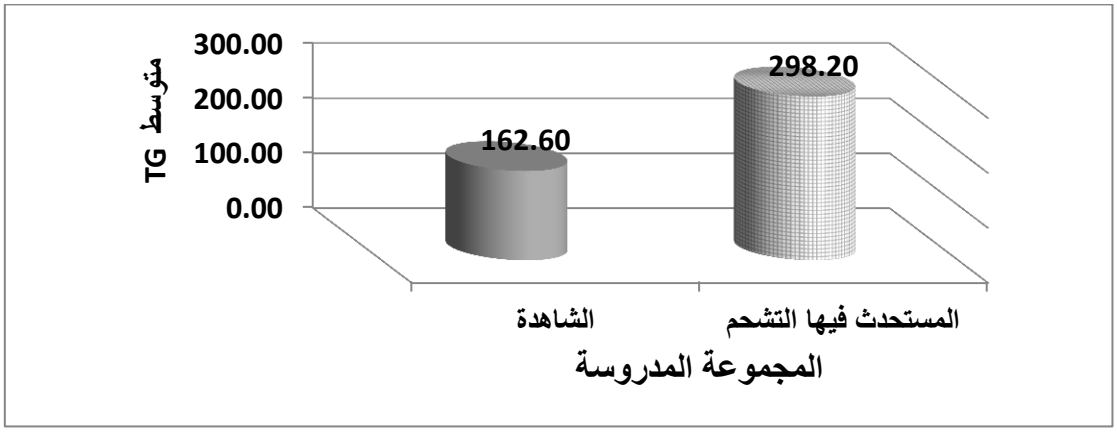
-المقارنة بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم:

لإجراء المقارنة تم استخدام اختبار ستودنت للعينات المستقلة independent sample t.test ونوضح نتائجه في الجدول(1):

الجدول(1) اختبار الفرق في متوسط TG بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم ملغ/ديسيلتر

الشاهدة	المستحدث فيها التشحم	فرق المتوسطات	t.test	p-value	النتيجة
162.6 ± 7.99	298.2 ± 46.66	135.6	6.405	0**	دال إحصائياً

حيث نلاحظ أن $p-value<0.05$ وعليه توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط TG بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم وأن قيمة $t=6.405$ وقيمة الفرق 135.6 وبما أن الفرق موجب بالتالي هناك ارتفاع معنوي في متوسط TG لدى استحداث التشحم وبنسبة 83.39% ونوضح ذلك بالشكل(1).



الشكل (1) : متوسطات TG بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم (ملغ/ديسيلتر)

- المقارنة بين المجموعة المستحدث فيها التشحم والمعالجة بالمستخلص والمعالجة بالاتورفاستاتين:

تم استخدام اختبار تحليل التباين one way anova لاختبار الفرق في متوسط TG بين المجموعات المدروسة ونوضح نتائجه في الجدول (2) التالي:

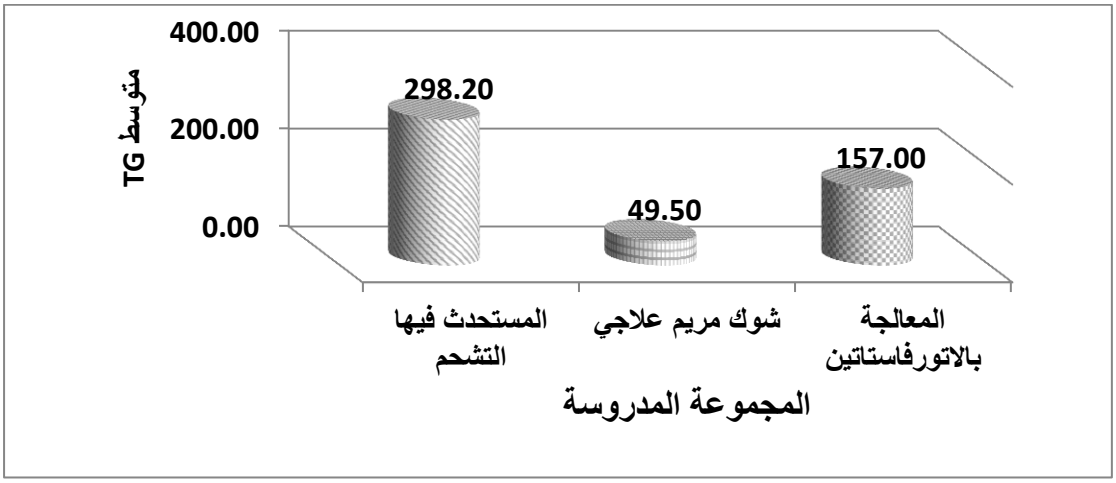
الجدول(2) اختبار الفرق في متوسط TG بين المجموعات المدروسة (ملغ/ديسيلتر)

ANOVA

TG

مصدر التباين	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	احصاء فيشر	p-value
بين المجموعات	209060.564	2	104530.282	187.413	.000
داخل المجموعات	10597.300	19	557.753		
الكلي	219657.864	21			

نلاحظ من الجدول السابق أن $p-value<0.05$ وعليه توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط TG بين المجموعات المدروسة ونوضح ذلك بالشكل(2).



الشكل (2) : متوسطات TG بين المجموعات المدروسة (ملغ/ديسيلتر)

حيث نلاحظ أن أعلى متوسط لـTG كان في المجموعة المستحدث فيها التشحم حيث كانت أعلى من مجموعة شوك مريم علاجي بنسبة 502.42% ، ومن المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين بنسبة 89.94%، كما أن متوسط المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين كان أعلى من متوسط مجموعة شوك مريم العلاجي بنسبة 217.17%، ولاستنتاج أماكن تواجد تلك الفروق تم استخدام اختبار LSD5% ونوضح نتائجه في الجدول التالي.

الجدول(3) متوسطات TG في مجموعات العمل (ملغ/ديسيلتر).

المجموعة	$mean \pm sd$	LSD5%
المستحدث فيها التشحم	C298.2 ± 46.66	27.07
شوك مريم علاجي	A49.5 ± 13.09	
المعالجة بالأتورفاستاتين	B157 ± 7.59	

حيث كل متوسطين لهما حرف مشترك بالتالي لا يوجد بينهما فرق معنوي(أو كل متوسطين الفرق بينهما أقل من قيمة LSD5% لا يوجد بينهما فرق معنوي) وعليه يوجد فرق معنوي ذو دلالة إحصائية بين جميع المجموعات.

- **أنزيم ALT:**

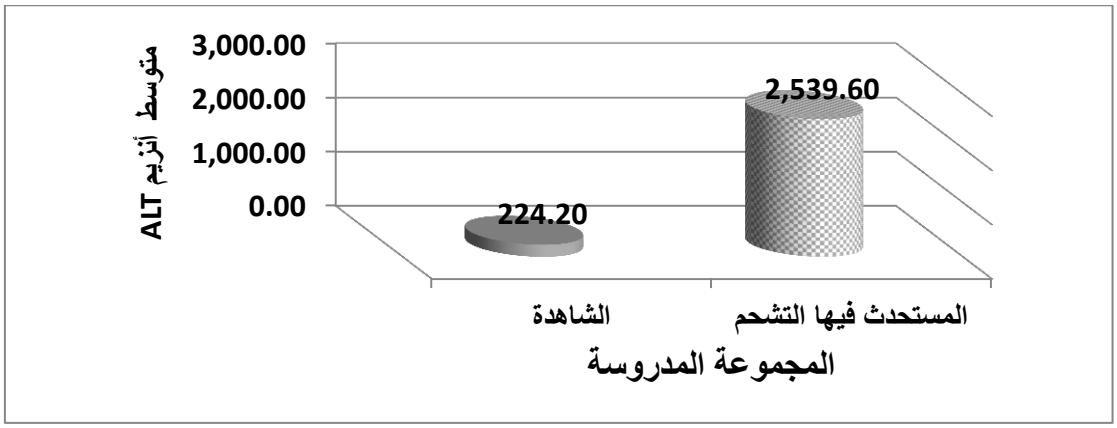
– المقارنة بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم:

لإجراء المقارنة تم استخدام اختبار ستودنت للعينات المستقلة independent sample t.test ونوضح نتائجه في الجدول(4):

الجدول(4) اختبار الفرق في متوسط أنزيم ALT (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم

الشاهدة	المستحدث فيها التشحم	فرق المتوسطات	t.test	p-value	النتيجة
224.2 ± 15.66	2539.6 ± 371.65	2315.4	13.919	0**	دال إحصائياً

حيث نلاحظ أن p-value<0.05 وعليه توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط أنزيم ALT بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم وأن قيمة t=13.919 وقيمة الفرق 2315.4 وبما أن الفرق موجب بالتالي هناك ارتفاع معنوي في متوسط أنزيم ALT لدى استحداث التشحم وبنسبة 1032.74% أي ما يزيد عن عشرة أضعاف ونوضح ذلك بالشكل(3).



الشكل (3) : متوسطات ALT (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعة الشاهدة والمستحدث فيها التشحم

- المقارنة بين المجموعة المستحدث فيها التشحم وشوك مريم العلاجي والمعالجة بالاتورفاستاتين:

تم استخدام اختبار تحليل التباين one way anova لاختبار الفرق في متوسط ALT بين المجموعات المدروسة ونوضح نتائجه في الجدول (5) التالي:

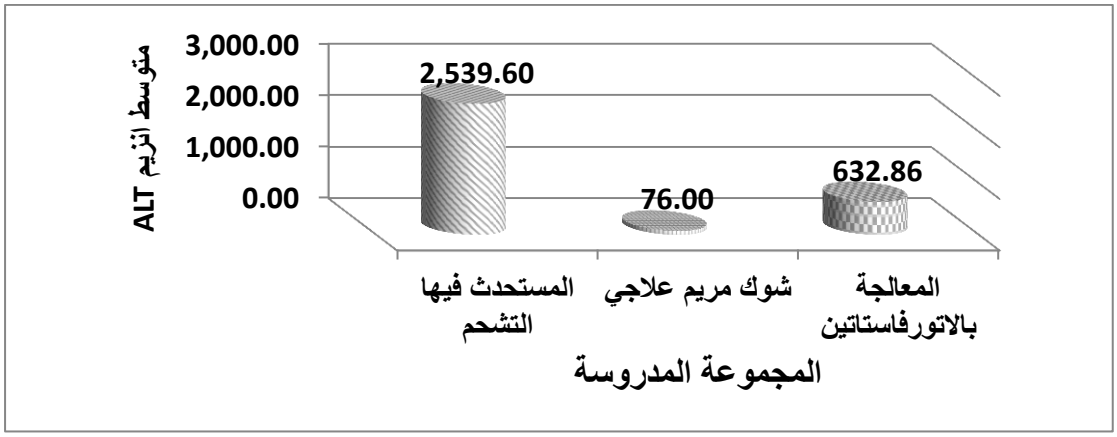
الجدول(5) اختبار الفرق في متوسط ALT (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعات المدروسة

ANOVA

ALT

مصدر التباين	مجموع المربعات	درجات الحرية	متوسط المربعات	احصاء فيشر	p-value
بين المجموعات	2.056E7	2	1.028E7	342.569	.000
داخل المجموعات	570290.057	19	30015.266		
الكلي	2.113E7	21			

نلاحظ من الجدول السابق أن p-value<0.05 وعليه توجد فروق معنوية ذات دلالة إحصائية في متوسط ALT بين المجموعات المدروسة ونوضح ذلك بالشكل(4).



الشكل (4) : متوسطات ALT (وحدة دولية/ليتر) بين المجموعات المدروسة

حيث نلاحظ أن أعلى متوسط لأنزيم ALT كان في المجموعة المستحدث فيها التشحم حيث كانت أعلى من مجموعة شوك مريم العلاجي بنسبة 3241.58% أي بما يفوق ثلاثين مرة ، ومن المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين بنسبة 301.29%، كما أن متوسط المجموعة المعالجة بالأتورفاستاتين كان أعلى من متوسط مجموعة شوك مريم العلاجي بنسبة 732.71%، ولاستنتاج أماكن تواجد تلك الفروق تم استخدام اختبار LSD5% ونوضح نتائجه في الجدول التالي.

الجدول (6) : متوسطات ALT(وحدة دولية/ليتر) بين المجموعات العمل .

المجموعة	$mean \pm sd$	LSD5%
المستحدث فيها التشحم	C2539.6 ± 371.65	198.61
شوك مريم علاجي	A76 ± 5.42	
المعالجة بالأتورفاستاتين	B632.86 ± 54.07	

حيث كل متوسطين لهما حرف مشترك بالتالي لا يوجد بينهما فرق معنوي(أو كل متوسطين الفرق بينهما أقل من قيمة LSD5% لا يوجد بينهما فرق معنوي) وعليه يوجد فرق معنوي ذو دلالة إحصائية بين جميع المجموعات.

نتائج الدراسة النسيجية :

2-1- تأثير رابع كلوريد الكربون على كبد الفئران:

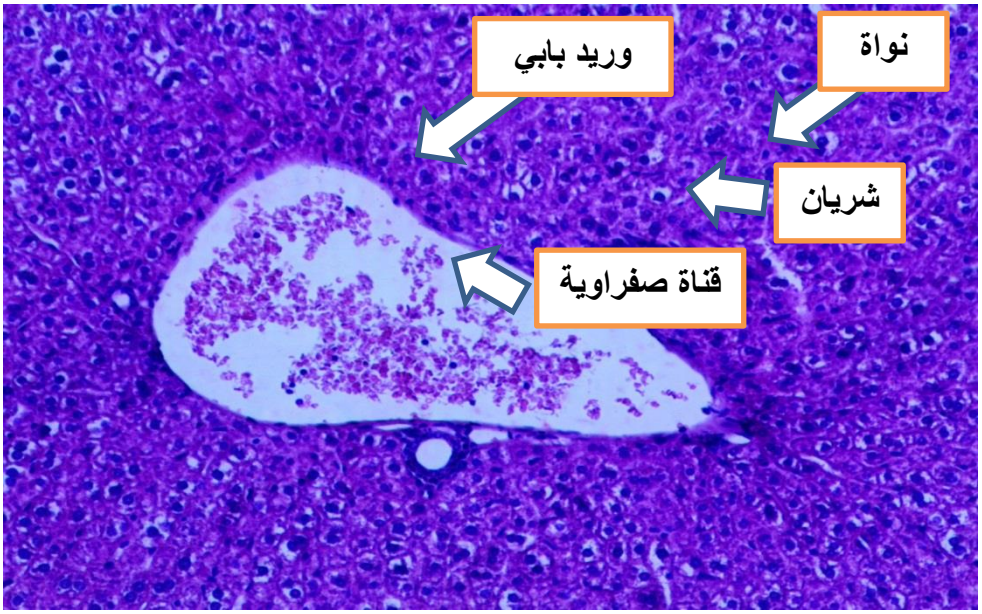
أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لكبد فئران المجموعة التجريبية الثانية المعاملة برابع كلوريد الكربون حدوث تشحم شمل كامل الساحة المجهرية ووصل أحيانا هذا التشحم إلى درجة التنخر حيث لوحظ تشكل استحالات شحمية في الخلايا الكبدية مما أدى إلى تغير تموضع نواة الخلية المتشحمة من المركز باتجاه المحيط من جراء المعاملة برابع كلوريد الكربون كما هو مبين في الشكل (6) .

2-2- تأثير رابع كلوريد الكربون والمستخلص الكحولي لشوك مريم على كبد الفئران :

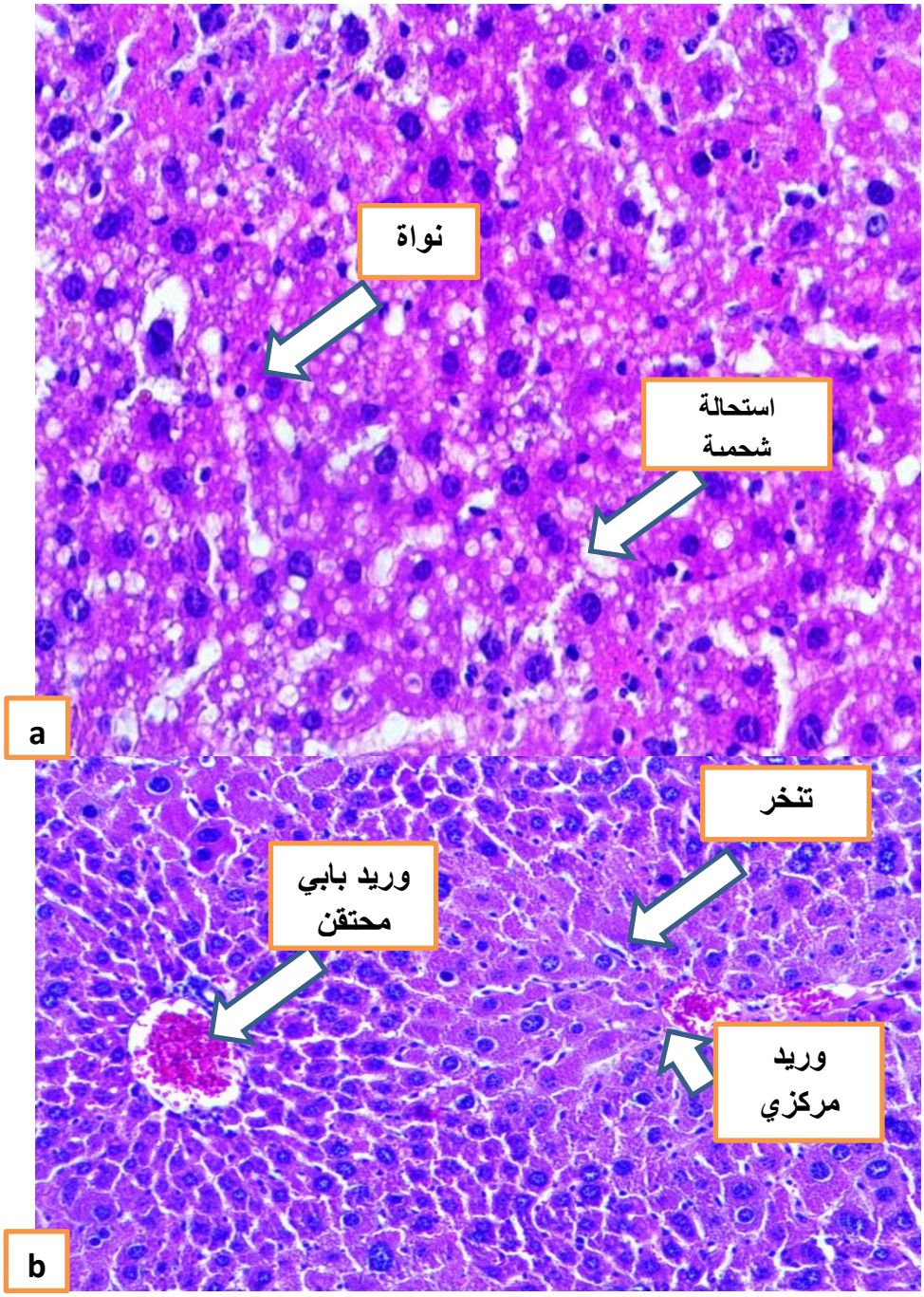
أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لكبد فئران المجموعة التجريبية الثالثة المعاملة بجرعات منفردة من رابع كلوريد الكربون وبجرعات يومية من المستخلص الكحولي لشوك مريم (لمدة 10 أسابيع) تحسنا واضحا في الخلية الكبدية بالمقارنة مع المجموعة الثانية، حيث كان التشحم بحدوده الدنيا حيث نلاحظ وجود عدد قليل جدا من الاستحالات الشحمية والبؤر الإلتهابية كما هو مبين في الشكل (7).

2-3- تأثير رابع كلوريد الكربون وعقار الأتورفاستاتين على كبد الفئران :

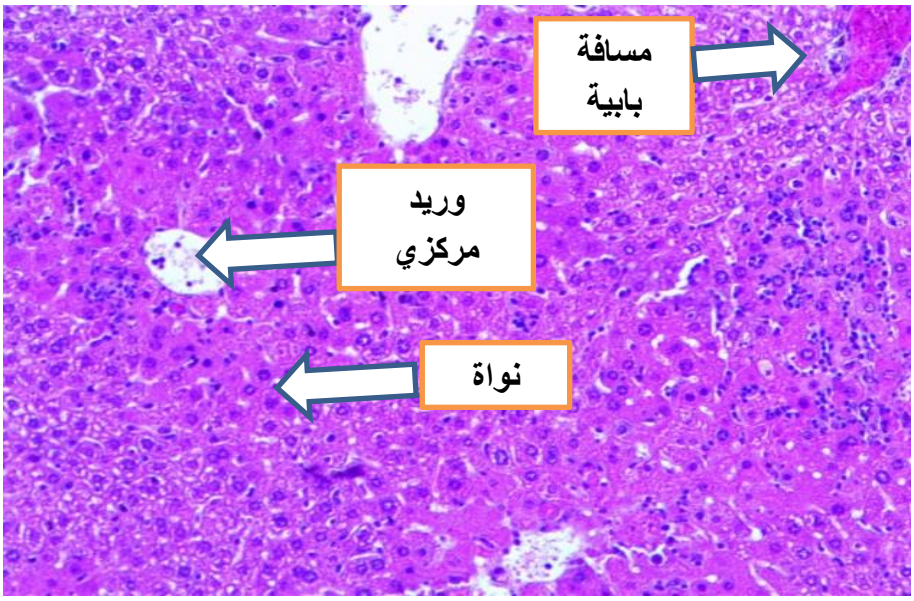
أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لكبد فئران المجموعة التجريبية الرابعة المعاملة بجرعات منفردة من رابع كلوريد الكربون وجرعات يومية من عقار الأتورفاستاتين (لمدة 10 أسابيع) أيضا تحسنا واضحا في الخلية الكبدية، حيث لم يلاحظ وجود فراغات شحمية أي أن التشحم بحدوده الدنيا مقارنة بالمجموعة الثانية ، كما لوحظ تراجع في الأذية الشحمية والخلايا الكبدية متجمعة على شكل حبال كما هو مبين في الشكل (8) .



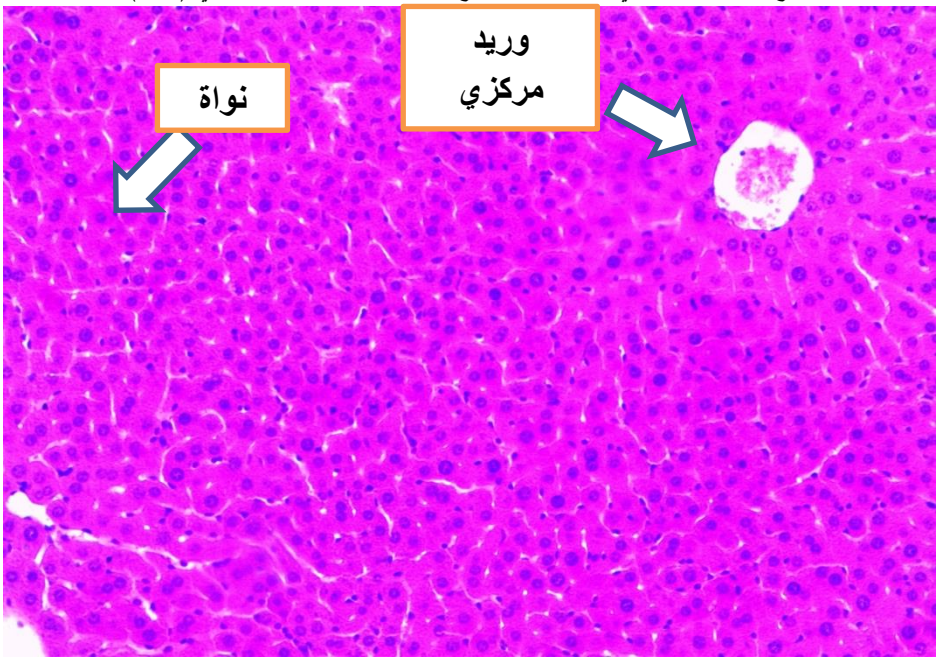
الشكل (5) المجموعة الشاهدة : وريد بابي ، الخلايا الكبدية طبيعية مع نوى مركزية (x40).



الشكل (6) بعض المقاطع النسيجية في أكباد المجموعة الثانية التي جرعت برابع كلوريد الكربون. (a) ظهور الاستحالات الشحمية في المقطع النسيجي مما دفع النواة المركزية باتجاه المحيط (x100) ، (b) تضرر النسيج الكبدي لدرجة التنخر والسيتوبلاسما أيوزينية وحدود الخلايا غير واضحة بالاضافة لظهور التنخر حول الوريد المركزي (x100).



الشكل (7) مقطع نسيجي في أكباد المجموعة الثالثة التي جرعت بمستخلص شوك مريم وبرابع كلوريد الكربون: حيث نلاحظ تحسنا واضحا وتراجع علامات الأذى في الخلايا الكبدية مع عودة الخلايا لوضعها الطبيعي (x40) .



الشكل (8) : مقطع نسيجي في أكباد المجموعة الرابعة التي جرعت بالأتورفاستاتين وبرابع كلوريد الكربون: نلاحظ تراجع علامات الأذى في الخلايا الكبدية وعودتها لوضعها الطبيعي (x40) .

المناقشة :

أظهرت النتائج في (الجدول 1، الجدول 3) أن أعلى متوسط لـ TG كان في المجموعة المستحدث فيها التشحم مقارنة مع الشاهدة ومجموعات شوك مريم والعقار الدوائي (الأتورفاستاتين) لكن عادت وانخفضت بعد استخدام كل من المستخلص النباتي والعقار الدوائي، كما كانت الفروق معنوية $P<0.05$ بين مجموعة شوك مريم ومجموعة

الأتورفاستاتين مقارنة مع المجموعة المستحدث فيها التشحم، فالمعالجة برابع كلوريد الكربون تتسبب بتجمع الدهون داخل سيتوبلاسما الخلية الكبدية، مما أثر بشكل واضح وجلي على وظائفها بشكل عام [15]، كما تسببت المعالجة بجرعة منفردة من رابع كلوريد الكربون (الجدول 4) إلى ارتفاع معنوي $P<0.05$ لتركيز ALT في مصل دم حيوانات المجموعة الثانية بالمقارنة مع الشاهدة . يتفق ذلك مع نتائج الدراسات الأخرى التي بينت بأن تجريع الفئران والجرذان بالباراسيتامول [17][16]، والرصاص [18]، والمبيدات مثل الباراكوت ديكلوريد [19]، والجينتاميسين [20]، ومضادات الاكتئاب مثل دولوكستين و ترازودون [21][22] ، والمعادن الثقيلة كالكادميوم ، تحث جميعها على الإجهاد التأكسدي لخلايا الكبد مسببة ارتفاع كل من ALT و AST [23] يعود سبب ذلك إلى تضرر خلايا الكبد وأكسدة الجزيئات الضخمة في الانسجة [24] وتشكل جذور حرة مؤكسدة (ROS) تهاجم ليبيدات الغشاء الخلوي مؤدية إلى تخربها وتحرر الأنزيمات في الدوران الدموي مع ارتفاع في تراكيزها [25] .

تظهر نتائج الدراسة الحالية التي استخدم فيها التجريع المتزامن (جرعة منفردة من رابع كلوريد الكربون في المجموعتين الثالثة والرابعة + حقن لمدة 10 أسابيع بالمستخلص الكحولي لأوراق شوك مريم في المجموعة الثالثة وحقن بنفس الفترة الزمنية بعقار الأتورفاستاتين في المجموعة الرابعة) إلى انخفاض معنوي $P<0.05$ في متوسطات قيم ALTفي مصل دم حيوانات المجموعتين بالمقارنة مع فئران المجموعة الثانية المستحدث فيها التشحم وهذا يؤكد التأثير العلاجيي للمستخلص الكحولي لأوراق شوك مريم في حماية خلايا الكبد، حيث تلعب مادة السليمارين (أحد المكونات الفعالة في النبات) دورا مهما في حماية خلايا الكبد المتضررة نتيجة الأمراض المختلفة من خلال منعها لدخول المواد السامة إلى داخل الخلايا [26] وعملها كمضادات أكسدة وربما تفاعلها بشكل مباشر مع الجذور الحرة وإنتاج مركبات مستقرة كيميائيا تحارب الجذور الحرة وتخفض من معدلات الاجهاد التأكسدي [27]، بالإضافة إلى أهمية مكونات الأتورفاستاتين الدوائية في حماية خلايا الكبد وتخفيضه لمستويات الدهون والكوليسترول [11] ، وبمقارنة تأثير كل من المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم في المجموعة الثالثة والاتورفاستاتين في المجموعة الرابعة على تراكيز ALT, TG ، فقد ظهر التشابه إلى حد كبير، إذ أظهرت النتائج انخفاضا معنويا $P<0.05$ في متوسطات قيم المعايير السابقة في المجموعتين، ممايشير إلى الأهمية الطبية لمكونات كل منهما الفعالة في حماية خلايا الكبد من التضرر .

لقد أظهرت نتائج الدراسة النسيجية في أكباد فئران المجموعة الثانية حدوث تشحم واضح وصل في بعض المقاطع لدرجة التنخر والتضرر الخلوي ، حيث لوحظ تشكل استحالات في الخلايا الكبدية مع تغير تموضع النواة في الخلايا المتشحمة الشكل(6) من المركز باتجاه المحيط، كما لوحظ تحسنا واضحا في أكباد فئران المجموعة الثالثة، وهذا مايؤكد احتواء المستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم على مضادات أكسدة تقلل من الإجهاد التأكسدي وتحمي الخلايا من الضرر المحدث برابع كلوريد الكربون، وقد كان التحسن واضحا أيضا في أكباد فئران المجموعة الرابعة ، حيث ظهر تأثير محتواه الكيميائي مماثل تقريبا كما ظهر في أكباد فئران المجموعة الثالثة .

تتفق نتائج الدراسة النسيجية الحالية مع نتائج الدراسات والأبحاث العلمية التي أظهرت الدور المهم لبذور الكتان [28] وزيت بذور الكتان في منع الإجهاد التأكسدي ومنع الانتباج الخلوي لأنسجة الكبد المحدث بعديد السكاريد الشحمي [29]، وتقليل الإفراط في تراكم الدهون في الأنسجة الكبدية والإستحالة البالونية [30] .

الاستنتاجات :

1-الدور المهم لرابع كلوريد الكربون في إحداث التشحم الكبدي .

2-الدور العلاجي للمستخلص الكحولي لأوراق نبات شوك مريم ضد التشحم الكبدي وآثاره المحدثة .

3-الدور المهم للأتورفاستاتين ضد التشحم الكبدي وآثاره المحدثة .

Reference:

1- Azwanida,N. *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation*. Medicinal & Aromatic Plants UK,2015.

2- Juma KK, Maina SG, Muriithi JN, Mwangi BM, Mworia KJ, Mwonjoria MJ, Ngeranwa JN and Mburu ND. *Protective Effects of Urtica dioica and Cimetidine® on Liver Function Following Acetaminophen Induced Hepatotoxicity in Mice*, Journal of Developing Drugs,2015.

3- Kucuker P. Turkish Plant Names in Lügât-i Müskilat-i Ecza, The Journal of International Social Research 2010; 3: 401-415 (in Turkish).

4- Gazák R, Walterová D, Kren V. Silybin and silymarin-- new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem 2007; 14: 315-338

5- Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian J Med Res 2006; 124: 491-504.

6- Rainone, F. Milk Thistle. Am Fam Physician 2005; 72: 1285-1288.

7- Kucuker P. Turkish Plant Names in Lügât-i Müskilat-i Ecza, The Journal of International Social Research 2010; 3: 401-415 (in Turkish).

8- Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. Science. 2011;332:1519e1523.

9- Moore JB. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and the metabolic syndrome. Proc Nutr Soc. 2010;69(02):211e220 .

10- Sanna C, Rosso C, Marietti M, Bugianesi E. Non-alcoholic fatty liver disease and extra-
hepatic cancers. Int J Mol Biol. 2016;17(5):717.

11-R. E. GO´ Mez-Domi´nguez, J . P. Gisbert, J . A. Moreno-Monteagudo, L.Garci´A-Buey& R. Moreno-Otero, A pilot study of atorvastatin treatment in
dyslipemid non-alcoholic fatty liver patients, , pp. 1643–1647 2006.

12- Alviano,S.W; Antoniolli,R.A; Farias,M.L; Luiz,W.G.In vitroantioxidant potential of
medicinal plant extracts and their activities against oral bacteriabased on Brazilian
folk medicine. Archives of oral biology, 2008, Vol 5(3)545 – 552.

13- IM-Sook Song,et al. Multiple alterations of canalicular membrane transport activities in
rats with CCl -induced hepatic injury , the journal of American Society forPharmacology
and Experimental Therapeutics,January, vol.31, P.p.482- 489(2003).

14- Maity, T., Ahmad, A., Pahari, N., & Ganguli, S. Hepatoprotective activity of mikania scandens (L.) willd. against diclofenac sodium induced liver toxicity in rats. Asian journal of pharmaceutical and clinical research, 5(2), 185-189(2012)..

15- Meinrad Boll*, Lutz W. D. Weber, Eberhard Becker and Andreas Stampfl, Mechanism of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity. Hepatocellular Damage by Reactive Carbon Tetrachloride Metabolites Z. Naturforsch. 56c 649-659 (2001).

16- Fadel,H;Darious,M;shhada,K. Effect of aqueous extract of rosemary leaves on some liver function in rabbits after acetaminophen treatment. Tishreen University Journal for Scientific Research and Studies,vol(37),2015.

17- Tung,B; Hai,N ; Son,P. Hepatoprotective effect of Phytosome Curcumin against paracetamol-induced liver toxicity in mice. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences Vietnam.vol(53),2017.

18- Wang,J; Yang,Z; Lin,L ;Zhao,Z; Liu,Z; Liu,X. Protective Effect of Naringenin Against Lead-Induced Oxidative Stress in Rats. Biol Trace Elem Res,vol(146), 354-359 ,2012.

19- Ujowundu,C; Nwaogu,L; Ujowundu,F; Oparaeche,N Oyarebu,A.Hepatotoxicity of Paraquat Dichloride and Ameliorative Effect of; Nutritional Supplements. Biochemistry & Molecular Biology Journal Nigeria,vol(4),2018.

20- GALALY,S; AHMED,O; MAHMOUD,A. thymoquinone and curcumin prevent gentamicin-induced liver injury by attenuating oxidative stress, inflammation and apoptosis journal of physiology and pharmacology, egypt;.vol(65), 823-832, 2014.

21- Abdel-Salam,O; Youssef Morsy,S; Sleem,A. the effect of different antidepressant drugs on oxidative stress afte lipopolysaccharide administration in mice. excli, Journal Egypt,vol(10),2011,290-203.

22- Voican,C; Corruble,E; Naveau,S; Perlemuter,G. Antidepressant-Induced Liver Injury: A Review for Clinicians. Mechanisms of Psychiatric Illness,vol(171), 404-.2014.

23- Rehman,H; Aziz,A; Saggu,S; VanWert,A; Zidan,N; Saggu,s. Additive toxic effect of deltamethrin and cadmium on hepatic, hematological, and immunological parameters in

mice, Toxicology and Industrial Health, Vol. 33(6),495-502, 2017.

24- Sivakumar,V; Sadiq,A; Rajan,M, Jayanthi,M; Paari,E. Hepatoprotective Effect of Solanum xanthocarpum in Paracetamol Induced Hepatic Damage in Experimental Animals, International Journal of Pharma Research and Health Sciences,vol(2), 125-130,2014.

25- Bogen,K; Benson,J; Yost,G; Morris,J; Dahl,A; Clewell,H; Krishnan,K; Omiecinski,K. Naphthalene metabolism in relation to target tissue anatomy, physiology, cytotoxicity and tumorigenic mechanism of action, NIH USA,vol(51),2018.

26- Gazák R, Walterová D, Kren V. Silybin and silymarin-- new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem; 14: 315-338, 2007.

27- AL-JUMAILY,F; AL-AZAWI,A. hepatoprotective activity of lignan compound from flaxseed (linumusitatissimum l.) against acetaminopheninduced hepatotoxicity in rabbits. World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences Iaq,vol(3) ,56-72,2013.

28- Darious. M; Daoud. A ; Dawarw. A Effect of flaxseed alcoholic extract on naphthalene-induced liver damage in Syrian hamsters Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (42) No. (1) 2020.

29- Abdel-Salam,O; Youssef Morsy,S; Sleem,A. the effect of different antidepressant drugs on oxidative stress afte lipopolysaccharide administration in mice. excli, Journal Egypt,vol(10) ,290-203,2011.

30- Xu,J; Gao,H; Song,L; Yang,W; Chen,C; Deng,Q; Huang,Q. Flaxseed oil and alphalipoic acid combination ameliorates hepatic oxidative stress and lipid accumulation in comparison to lard. Lipids in Health and Disease China,2013.

.