دراسة التبدلات الهرمونية والخلوية والنسيجية لخصى الأرانب بعد معاملتها بمسحوق بذور الحلبة

Hormonal Histological and cytological alteration study of rabbits testes after fenugreek seed powder treatment

د.محي الدين العلي
أ.م.في كلية العلوم
جامعة البعث

د. إيادعثمان
دكتور في كلية الطب البيطري
جامعة حماة

اهتمت معظم الأبحاث العلمية المعاصرة بإجراء الدراسات عن النباتات الطبية وتأثيراتها الدوائية ، حيث ركزت هذه الأبحاث على استخدام المواد الفعالة الطبيعية المستخلصة من النبات أو حتى استخدام النبات كاملاً في الاستشفاء والوقاية من الأمراض ، وكان لهذه الجواهر الفعالة نتائج كبيرة ومدهشة في علاج العديد من الأمراض [9]

ومن هذه النباتات نبات الحلبة ، الذي استخدم في العديد من العلاجات الطبيعية ، مثل معالجة السكري أو كمدر بولي [16] أو لزيادة الوزن بغض النظر عن بعض التأثيرات الجانبية . حيث أشارت الدراسات إلى وجود تأثيرات سلبية للحلبة على بعض أجهزة الجسم ، ومنها بالتحديد الجهاز التناسلي الذكري والأنثوي نتيجة الاستخدام المديد . من هنا كان التوجه لدراسة ماهية هذه التأثيرات السلبية التي يمكن أن تحدثها الحلبة .

هدفت الدراسة إلى البحث بالتأثيرات السلبية لبذور الحلبة على عملية الإنطاف عند ذكور الأرانب ودراسة التغيرات الخلوية والنسيجية ، والهرمونية الناتجة عن استخدام مستخلصات هذا النبات .

أجريت الدراسة على ٣٢ من ذكور الأرانب ، من السلالات المحلية ، بعمر خمسة أشهر، ووزن وسطي ٢,٣ كغ ، تم إيواؤها في ظروف تربية ملائمة ، تحت درجة الحرارة ٢٠ درجة مئوية وسطيا ورطوبة نسبية ٥٥% ، وتقديم الغذاء والرعاية المناسبة . بعد مرور فترة إراحة وأقلمة الحيوانات (اسبوعين) ، تم توزيعها إلى ثلاث مجموعات تركت أرانب المجموعة الأولى منها وعددها ثمانية أرانب كشاهد وجرعت ماء الشرب دون أية إضافات ، عن طريق الفم بمساعدة محقن وانبوب مطاطي .

بينما جرعت أرانب المجموعة الثانية وعددها (١٢) أرنبا مستحلب مسحوق بذور الحلبة بجرعة ٧٥٠مغ/كغ وزن حي يوميا ، وأعطيت أرانب المجموعة التجريبية الثالثة وعددها (١٢) أرنبا المستحلب ذاته بجرعة ١٥٠٠ مغ/ كغ وزن حي يوميا .

وزنت أرانب المجموعات التجريبية والشاهد قبل بدء التجربة وبعد ٤٥ يوما وفي نهايتها أي بعد ٧٥ يوما من البدء . أما العقار فقد تم تأمينه جاهزا من إحدى الشركات الدوائية المحلية بشكل مسحوق بذور الحلبة . و تم استحلابه بإضافة الجرعة اليومية الموزونة بميزان كهربائي حساس إلى الكمية المناسبة من الماء .

تم قتل نصف عدد الأرانب التجريبية والشاهد كذلك على مرحلتين (الأولى بعد مرور ٤٥ يوما ، والثانية بعد ٧٥ يوما من بداية التجربة) ، حيث وزنت قبل القتل وسحبت عينة الدم من القلب مباشرة بواسطة إبرة خاصة ، وجمعت في أنابيب خالية من أي مانع للتخثر .

بعد تشريح الحيوانات المقتولة تم نزع الخصى والبرابخ وتجريدها من المواد العالقة أو الرطوبة والدماء بواسطة أوراق ترشيح ، ثم وزنها بميزان كهربائي حساس لأربعة أرقام عشرية . وضعت إحدى الخصى وبربخها من كل أرنب في محلول فيزيولوجي من أجل الكشف عن كثافة النطاف ونسبة الطبيعي والشاذ منها . بينما وضعت الخصية الأخرى من كل أرنب في محلول الفورمالين المتعادل الممدد بنسبة١٠% من أجل تثبيت هذه العينات لحين إجراء الدراسات النسيجية .

للتعرف على مستوى الهرمونات المصلية (التستوستيرون) استخدمت طريقة الامتصاص الطيفي، بواسطة كيت خاص و قرئت عند طول موجة الإمتصاص ٤٥٠ نانومتر [23].

لقد تم تحضير العينات النسيجية من الخصى من أجل دراسة كثافة النطاف وصفاتها بعد تقطيع الخصية وسحقها، وإضافة ٩,٨ مل فورمالين ملحي، وقطرتي أيوزين، من أجل معرفة محتوى النبيبات المنوية من النطاف .

ثم أخذت قطرة من معلق نسيج الخصية في المحلول الملحي وأدخلت تحت ساترة شريحة عد كريات الدم (نيوباور) ، وفحصت تحت المجهر بعد استقرار النطاف ، بحيث تم فحص ٨٠ مربعا صغيرا موزعة على المربعات الزاوية الأربعة إضافة للمربع المركزي .

الأمر ذاته طبق على العينات البربخية بعد تقطيع البربخ بمشرط ، وباستخدام ماصة عد كريات الدم في محلول ٠،٩ % ملح طعام + ٠،٠٠١ % كلوريد زئبق مع التلوين بالأيوزين حسب الطريقة السابقة .

من أجل الكشف على عدد النطاف الحية الطبيعية والمشوهة ، أخذت قطرة من معلق نسيج البربخ ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة وأضيف إليها قطرة من صبغة الهيماتوكسيلين أيوزين ، ومزجت جيدا ثم تركت حتى الجفاف بدرجة حرارة الغرفة ، ودرست تحت المجهر بتكبير ٤٠× حسب طريقة [25]كما درس كثافة النطاف عموما بطريقة [19].

أما المحضرات النسيجية فقد تم إعدادها من الخصية والبربخ بعد التخلص من آثار الفورمالين ومن ثم إدماجها بالبارافين ، والتقطيع إلى رقائق نسيجية بثخانة حوالي ٦ميكرون وإلصاقها على الشرائح الزجاجية ، والتلوين بالهيماتوكسيلين أيوزين ، ثم فحصها نسيجيا تحت المجهر الضوئي ، وأخذ الصور من المقاطع النسيجية المناسبة .

التحليل الإحصائي : تم تحليل المعطيات الرقمية إحصائيا بطريقة تحليل الفروقات (ANOVA) واستخدام الحزمة الإحصائية [21].
ثم مناقشة النتائج التجريبية ووضع الاستنتاجات المناسبة.

النتائج Results :

الجدول (١) تأثير مسحوق بذور الحلبة على زيادة وزن جسم الأرانب بالـ (غ)

المجموعة	الشاهد	التجريبية الأولى	التجريبية الثانية
الفترة بعد ٤٥ يوم	٢٥٦ ± ١٠،٢	٢٥٨± ١٨،٢	٢٥٢± ١٣،٣
الفترة بعد ٧٥ يوم	٢٦٧± ١١،٨	٢٧٣± ١٢،٢	٢٥٠ ± ١٦،٥

حيث يلاحظ أن معدل زيادة الوزن بالنسبة لأرانب المجموعة التجريبية الأولى كان الأفضل وقد بلغ ٥,٨١% مقابل معدل الزيادة ٤,٢٩% للشاهد نهاية التجربة. يقابلها انخفاض واضح بمعدل زيادة الوزن بالنسبة لأرانب المجموعة التجريبية الثانية بلغ ٠,٨%

الجدول(٢) تأثير مسحوق بذور الحلبة على تغير وزن خصى الأرانب بالـ(غ)

المجموعة	الشاهد	التجريبية الأولى	التجريبية الثانية
الفترة بعد ٤٥ يوم	١٢،٦ ± ٠،٩	١٢،١ ±١،٢	١٢،٨ ±١،٠
الفترة بعد ٧٥ يوم	١٣،٨ ±١،٣	١٢،٩ ±٠،٨	١١،٥ ± ٠،٩

ويظهر أن مسحوق بذور الحلبة ذو تأثير إيجابي على تغيرات وزن الخصى ، بالجرعة المعتدلة ٧٥٠ ملغ /كغ وزن حي ، هذا الأمر الذي ينقلب إلى ضده عند رفع الجرعة المؤثرة حتى ١٥٠٠ملغ /كغ ، حيث تراجع متوسط وزن الخصى من ١٢,٨ إلى ١١,٥ ملغ .

الجدول (٣) تأثير مسحوق بذور الحلبة على كثافة النطاف في الخصية بالمليون/ م

المجموعة	الشاهد	التجريبية الأولى	التجريبية الثانية
الفترة بعد ٤٥ يوم	٧٥،٦ ± ٤،٣	٧٢،١ ±٥،٢	٦٩،٨ ±٦،٣
الفترة بعد ٧٥ يوم	٨٠،٨ ±٣،٢	٧٣،٩ ±٤،٨	٦٤،٥ ± ٤،٩

و بالنسبة لتأثير مسحوق بذور الحلبة على كثافة النطاف في الخصية فقد كانت التغيرات طفيفة فيما تعلق بعينات خصى المجموعة التجريبية الأولى مقارنة بالشاهد ،

في الوقت الذي لوحظ فيه تراجع واضح بكثافة النطاف في خصى عينات المجموعة التجريبية الثانية (التي تراجعت من ٦٩,٨م / مل إلى ٦٤,٥ م/ مل مقابل الزيادة الحاصلة في عينات الشاهد وقد بلغت ٧٥,٦م/مل - ٨٠,٨ م/مل .

الجدول (٤) النسبة المئوية للنطاف الحية في البربخ

المجموعة	الشاهد	التجريبية الأولى	التجريبية الثانية
الفترة بعد ٤٥ يوم	٩١،٤ ± ٦،١	٨٨،٤ ±٧،٥	٨٤،٢ ±٥،٠
الفترة بعد ٧٥ يوم	٩٤،٢ ±٧،٣	٩٠،٨ ±٤،٨	٧٩،٣ ± ٦،٤

وفيما يتعلق بالنسبة المئوية للنطاف الحية في البرابخ ، فإنه لوحظ ارتفاع طفيف بهذه النسبة في عينات المجموعة التجريبية الأولى . قابله انخفاض بنسبة النطاف الحية في عينات المجموعة التجريبية الثانية وعلى مدى الفترتين .

الجدول (٥) النسبة المئوية للنطاف المشوهة في البربخ

المجموعة	الشاهد	التجريبية الأولى	التجريبية الثانية
الفترة بعد ٤٥ يوم	٩،٣ ± ٦،٨	١٣،٣ ±٩،٦	١٧،٩ ±٧،٩
الفترة بعد ٧٥ يوم	١٠،١ ±٨،٢	١٥،٢ ±٧،٧	٢١،٤ ± ٩،٥

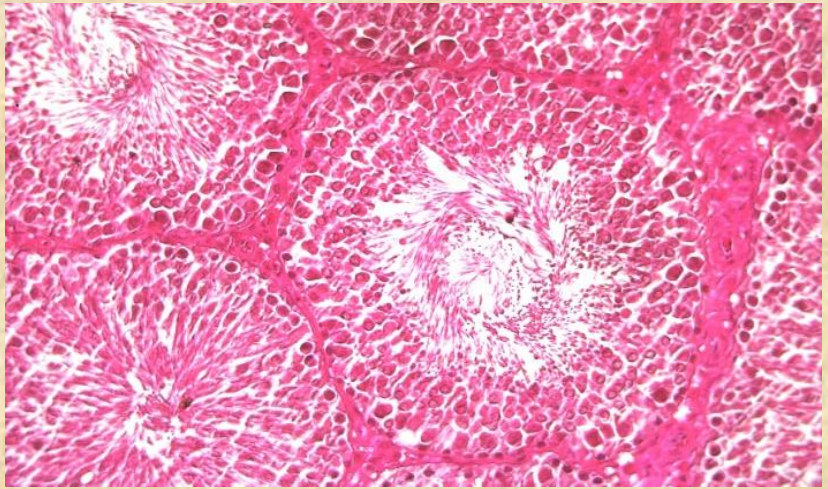
ويبين الجدول رقم (٥) ارتفاعا بسيطا غير معنوي بنسبة النطاف المشوهة في المجموعات التجريبية مقارنة بالشاهد ، لكن هذا الارتفاع كان أكثر وضوحا فيما يتعلق بنتائج المجموعة التجريبية الثانية، وقد ارتفعت من ١٧,٩% - ٢١,٤% .

الجدول (٦) تأثير الحلبة على مستوى التستوستيرون المصلي عند الأرنب(ng/ml)

المجموعة	الشاهد	التجريبية الأولى	التجريبية الثانية
الفترة بعد ٤٥ يوم	٦،٢ ± ٠،٤	٤،٩ ±٠،٣٢	٣،٤ ±٠،٣٥
الفترة بعد ٧٥ يوم	٦،٥ ±٠،٢٥	٤،٣ ±٠،٤٥	٢،٣ ± ٠،٤

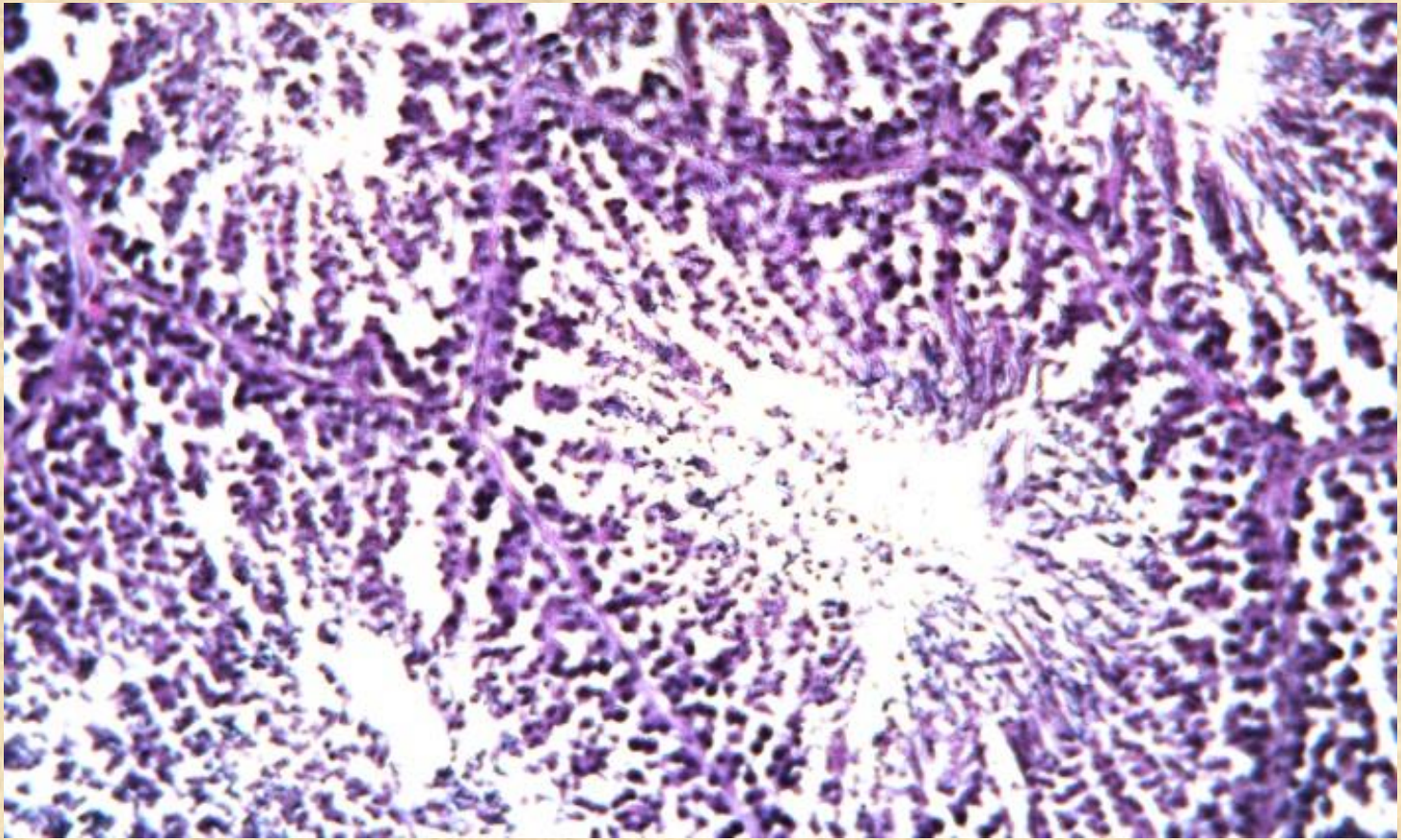
ويعرض الجدول السادس نتائج تأثير مستحلب بذور الحلبة على مستوى التستوستيرون المصلي عند الأرانب ، حيث كان هناك تراجع مضطرد إنما غير معنوي بمستوى الهرمون في عينات المجموعات التجريبية وكان هذا التراجع متناسبا عكسيا مع الزيادة في الجرعات المستخدمة .

وقد بينت المحضرات النسيجية التي تم إعدادها من الخصى والبرابخ ، البنية النسيجية الطبيعية للنبيبات المنوية ، في عينات المجموعة الشاهد، التي أظهرت كثافة النطاف المتجمعة في لمعة النبيبات المنوية والبربخ ، الشكلين (١ و٢) .

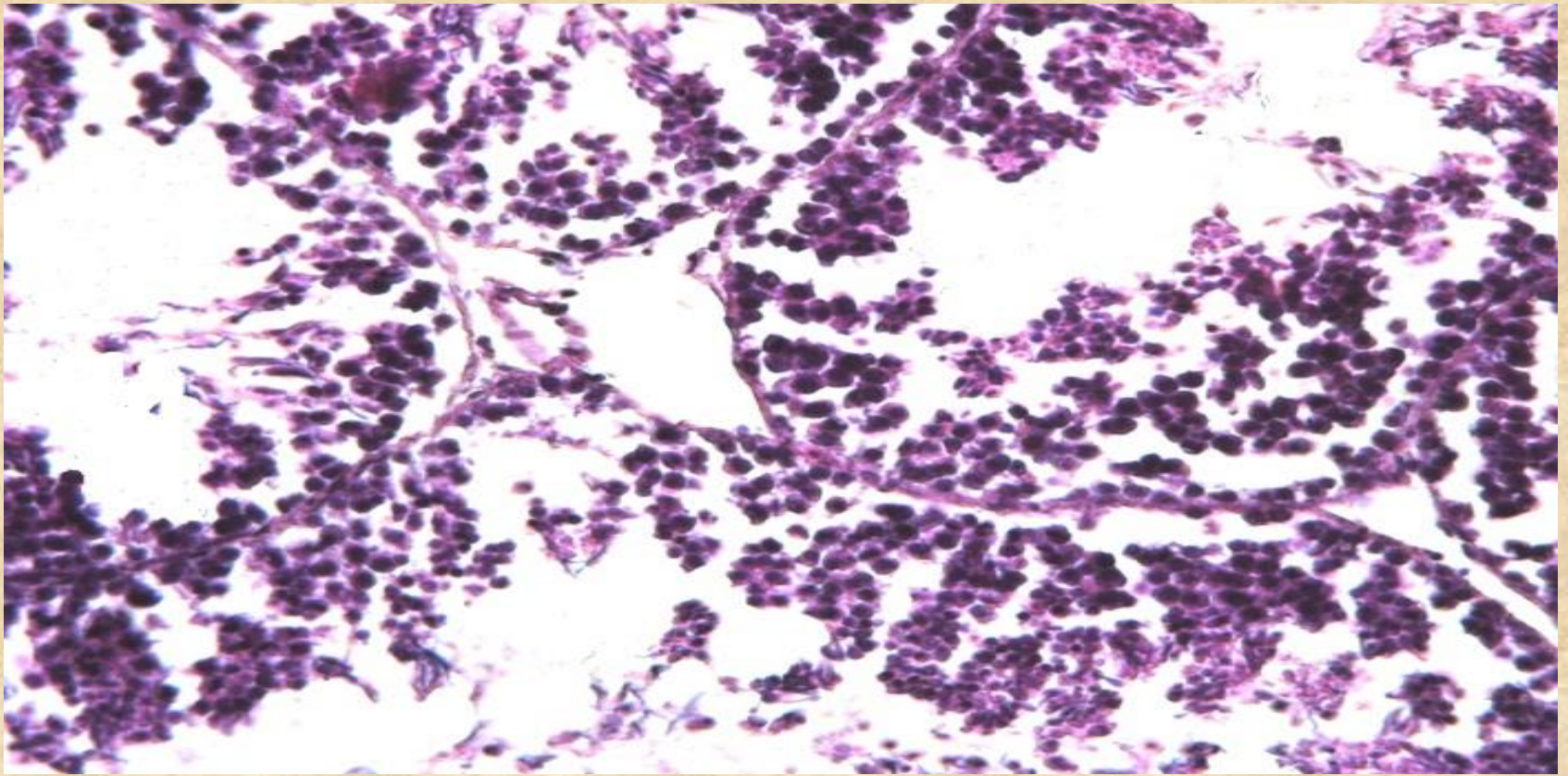


الشكل رقم (١) البنية الطبيعية لنسيج الخصية في العينات المأخوذة من أرانب المجموعة الشاهد.

الشكل رقم (٢)البنية الطبيعية لنسيج البربخ في العينات المأخوذة من أرانب المجموعة الشاهد



الشكل رقم (٣) تنكسات وضمور في الخلايا الجرثومية ، وتراجع كثافة النطاف في لمعة النبيبات مع بعض النطاف غير الطبيعية



الشكل رقم (٤) مقطع في خصية أرنب من المجموعة الثانية بعد ٧٥ يوما من التجربة ، ويبين التبدلات الخلالية التي تشمل خلايا ليدغ واضطراب بنية نسيج النبيبات وتراجع أعداد الخلايا المنشئة الجرثومية وقلة النطاف في اللمعة .

الشكل رقم (٥) ويظهر تراجعا واضحا بكثافة النطاف المخزنة في برابخ المجموعة التجريبية الثانية نهاية التجربة .

الاستنتاجات والتوصيات :

١ـ لمسحوق بذور الحلبة ، عن طريق الفم ، تأثيرات مختلفة وزن وإخصابية ذكور الأرانب ، تتناسب مع الجرعة ومدة التأثير.

٢ـ لم يكن للجرعات المعتدلة من مستخلص بذور الحلبة أية تأثيرات سلبية واضحة ، على المعايير المدروسة ، وكانت النتائج قريبة لما هو عند الشاهد .

٣ـ تؤدي الجرعات المرتفعة من مسحوق بذور الحلبة إلى تراجع وزن جسم الأرانب ، والخصى ، ومستوى التستوستيرون المصلي ، وكثافة النطاف . فضلا عن التغيرات السلبية في الخلايا الجرثومية للنبيبات المنوية ، وفي النسج الخلالية أيضا .

المراجع العربية :

١. الحكيمي ، أديب عبده (٢٠٠٢) استخلاص الترايكونليين من بذور الحلبة العراقية ودراسة تأثيره على مستوى السكر والدهون في الأرانب السليمة والمصابة بداء السكري المستحدث بمادة الألوكسان ،المركز الوطني للمعلومات ، اليمن.

٢. السلامي ، علاء الدين صبحي محسن (٢٠٠٤) تأثير مستخلص خلات الإتيل والكحول الإتيلي لبذور نبات الحلبة في خصوبة ذكور الفئران البيض وإناثها . اطروحة ماجستير ، كلية العلوم . جامعة الكوفة .

٣. الشافعي ، حيدر صالح جفات (٢٠١٢) تأثير مستخلص نبات الحلبة في بعض معايير الخصوبة في ذكور الجرذان البيض . أطروحة دكتوراه – كلية العلوم – جامعة بابل.

٤. جواد سحر محمود (٢٠٠٢) تأثيرات مستخلص خلات الإتيل لبذور نبات الحلبة Trigonellafoenum- graecum L.في خصوبة الجرذان المهق . قسم علم الحياة . جامعة الكوفة .

٥. كليمان سعد ، عبد الرزاق حموية وأسعد العبد (٢٠٠٩) تأثير الخلاصة المائية لبذور الحلبة على بعض صفات السائل المنوي للأرانب . مجلة علوم الرافدين ،المجلد ٢٠ العدد ٢، ص١-٢ .

المراجع الأجنبية :

6-AL-atwi,F.Lafta.(2010):Clinical evaluation for the diuretic effect of the alcoholic extract of Trigonellafaenum- gracum seeds (fenugreek) on rabbits.: Alkofa.

7-Abdalla,M. Abdelatif.; Mariam,Y.Ibrahim. and Amal,S. Mahmoud. (2012): Antidiabetic Effects of Fenugreek (Trigonellafoenum-graecum) Seeds in the Domestic Rabbit (Oryctolaguscuniculus). Volume: 6. Page No.: 449-455.

8-AL-Habori, M. and Raman, A. (1998) Antidiabetic and Hypocholesterolaemic effect of fenugreek. Phytother. Res., 12:233– 42.

9-Bhatti, M.A. and Khan, M.T.J.(1996)Antibacterial activity of Trigonellafoenumgraecumseeds. Fitoterapia.67(4) : 372-374.

10-Elujoba, A.A.; Hardman, R. (1987): Saponin-hydrolyzing enzymes from fenugreek seed. Fitoterapia;58:197-199.

11-Fowden, L.; Pratt, HM. & Smith, A (1973): 4-Hydroxyisoleucine from seed of Trigonellafoenumgraecum. Phytochemistry 12:1707–1711.

12-Jelodar, G. A.; Maleki, M.; Motadayen, M. H.; Sirus, S. (2005) Effect of fenugreek, onion and garlic on blood glucose and histopathology of pancreas of alloxan-induced diabetic rats.
13-Hale,T.(2002) Medications and mother`s milk, 10th edition. Pharmasoft medical publishing. PP. 277- 279.
14-Kamal, L.R., Yadav, R. and Sharma, J.D. (1993) Efficacy of the steroidal fraction of fenugreek seed extract on fertility of male albino rats.*Phytother. Res*., Volume 7, (2). pp.134–138.

15-Kassem, A., Al-Aghbari, A., AL-Habori, M. and Al Mamary, M. (2006) Evaluation of the potential antifertility effect of fenugreek seeds in male and female rabbits. *Contraception*, 73(3):301-6.
16-Korman, S.H.,Cohen, E. and Preminger, A. (2001) . Pseudo-maple syrapurin, disease due to maternalprental ingestion of fenugreek. J., Paediater child health Aug., 37(4) : 403-404.
17-Li Xue W, Li XS, Zhang J, Liu YH, Wang ZL, Zhang RJ (2007). Effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) extracts on blood glucose, blood lipid and hemorheological properties in streptozotocin-induced diabetic rats. Asia Pac J Clin Nutr. 2007;16(S1):422–426.

18-Mishra, S.P.V. (2013): Flaxseed- Bioactive compounds and health significance:IOSR Journal Of Humanities And Social Science (IOSR-JHSS) Volume 17, Issue 3 (Nov. - Dec. 2013), PP 46-50.
19-Sakamoto J. and Hashimoto K. (1986). Reproductive toxicity of acrylamide andrelated compounds in mice effects on fertility and sperm morphology. Arch.Toxicol., 59: 201-5
20-Sharma, R.D.; Raghuram, T.C.; Sudhakar, Rao. N.; (1990): Effect of fenugreek seeds on blood glucose and serum Lipids in type 1 Diabetes . Eur. J. Clin. Nutr. Basingstroke . The Macmillan pressLtd. (Abstract) . 44 : 301-306
21-SPSS Statistical 17.0 (2008): Statistical Package for Social Sciences-Version 17.0. Computer software 17.0, SPSS Inc., Head-quarters. Wacker Drive, Chicago, lllinois 60606, USA.
22-Trint A Gunnels and Richard J Bloomer(2014)Increasing Circulating Testosterone: Impact of Herbal Dietary Supplements.J Plant BiochemPhysiol, 2:2.
23-Wistom, G.B. (1976). Enzyme- Immunoassy, Clin. Chem. 22: 30 .
24-Yoshikawa, M.; Murakami, T. and Komatsu, H.; (2001): Medicinal foodstuffs. IV, Fenugreek seed. (1): structures of trigoneosidesIa, Ib, IIb, IIIa and IIIb, new furosranolsaponins from the seeds of Indian Trigonellafoenum-graecum(Fenugreek) seed extract as antineoplastic Agent, phytother. Res; 15: 257-9.
25-Zeneveld, L.J.D. &Polakski, K.L. (1977). Collection and physical examination of theejaculate. In: Techniques of human endocrinology, Hafez, S.S .F. (eds).Elasevier, North Holland Biochemical Press. pp: 147-172.