مجلة ام سلمة للعلوم **مجلد 6(2) 2009**

تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي الحار لنبات الحبة السوداء *Nigella sativa* على بعض الأوجه المناعية للفئران البيض Albino mice

شيلان خير الله الزندي* ***امنة نصيف جاسم**** ***علي هاشم الموسوي*****

تاريخ قبول النشر 15 /4 / 2009

الخلاصة

أظهرت نتائج الدراسة الكيميائية احتواء المستخلص المائي الحار والكحولي الحار لنبات حبة السوداء على المواد الفعالة القلويدات و الصابونيات والفلافونويدات والدباغيات والكلايكوسيدات والتربينات والستيرويدات .

جرعت الحيوانات بالمستخلصين عن طريق الفم بمقدار 0.1 ml وبتركيز 100ملغم / كغم من وزن الجسم وأظهرت النتائج مستويات عالية في العد الكلي لخلايا الدم البيض والعد التفريقي لها Total& Differential count of WBC ، معامل بلعمة الخلايا Phagocytosis Index في الدم المحيطي ، الفعالية الانقسامية Mitotic Index لخلايا أربعة أعضاء لمفاوية(نقي العظم ، الطحال ، التوثة ، العقد اللمفاوية) وتفاعلات فرط الحساسية الآجلة والعاجلة Arthus &Delayed Type Hypersensitivity كذلك حساب تركيز خضاب الدم Hb ومعدل حجم خلايا الدم الحمر المضغوطة PCV وكان المستخلص الكحولي أكثر تأثيرا من المستخلص المائي الحار في التأثير على الفئران .

الكلمات المفتاحية:حبة السوداء، المناعة لحبة السوداء.

المقدمة:

عرفت الحبة السوداء عدة أسماء أهمها حبة البركة ، كمون الأسود ، كمون أكحل ، بشمة ، تشمة ومن تسمياته الأجنبية black seed , black cumin , small fennel(1) وهي نباتات عشبية حولية متوسطة النمو تعود الى العائلة الشقائقية Ranunculaceae ، وينتشر في العراق في منطقة الصحراء الغربية وفي مدينة الموصل ومدينة السليمانية ومنطقة الرستمية في أطراف مدينة بغداد(2).

ساعدت الدراسات داخل وخارج الجسم الحي التي اجريت على الحيوانات المختبرية وعلى الانسان على فهم ومعرفة وظائفه الصيدلانية والتي تتضمن التحفيز المناعي وضد السرطانanticancer وضدالالتهاب anti-inflamation وضد الاكسدة anti-oxidant وضد البكتريا antibacterial وضد الطفيلياتanti- parasit وغيرها من التاثيرات التي جعلت الحبة السوداء تتصدر قائمة النباتات الطبية فقد أوضح (3) ان تناول غرام واحد من بذور الحبة السوداء مرتين في اليوم ولمدة خمسة اسابيع يعمل على تحفيز الجهاز المناعي وزيادة فعالية الخلايا الطبيعية القاتلة Natural Killer Cells وزيادة الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة T-helper (Th) وزيادة نسبتها قياساً بالخلايا اللمفاوية التائية المثبطة T-(Ts) supresser وهذا ما اكدته الدراسات اللاحقة في الفعالية التحفيزية للحبة السوداء على الجهاز المناعي وتعزيز النسبة T_h/Ts بنسبة 55% وبمعدل تعزيز 33% لفعالية الخلايا القاتلة الطبيعية، اضافة الى ان الحبة السوداء تعزز من انتاج الانترلوكين 3- IL وزيادة تركيز الانترلوكين1 بيتا -IL وبدون اضافة أية محفزات (4 و 5).

ان مستخلصات الحبة السوداء وبعض مكوناته الفعالة مثل الثايموكوينون Thymoquinon(TQ) اظهرت فعاليتها في الدراسات الدموية والكبد والكلية وغيرها من حالات السمية التي يحفزها بعض مضادات السرطان وبعض السموم، فعلى سبيل المثال فأن مستخلص الحبة السوداء يحمي انخفاض مستوى الهيموكلوبين والعدد الكلي لكريات الدم البيض الذي يسببه عقار Cisplation في الفئران(6).

وعند دراسة الفعالية الوقائية لبذور الحبة السوداء ضد الخلل الوراثي الناشيء من التعرض لاشعة كاما المؤينة وتأثيرها في الجهاز المناعي للفئران المختبرية، وجد انها تضفي حماية عند استخدامها بتركيز 5% قبل التعرض للاشعاع من خلال تحسين نظام الاصلاح في الخلية وتحسين الجهاز المناعي من خلال رفع فعالية انزيم Adenosin deaminas (ADA) النوعية (7).

هدف البحث هو دراسة تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي الحار لنبات الحبة لسوداء *Nigella sativa*على بعض الأوجه المناعية للفئران البيض *Albino mice* وذلك من خلال :

*البحث مستل من رسالة الباحث الاول/كلية العلوم جامعة كركوك
** استاذ مساعد قسم علوم الحياة كلية العلوم للبنات
***استاذ/قسم علوم الحياة كلية العلوم للبنات

العد الكلي لخلايا الدم البيض والعد التفريقي لها Total& Differential count of WBC ، معامل بلعمة الخلايا Phagocytosis Index في الدم المحيطي ، الفعالية الانقسامية Mitotic Index لخلايا أربعة أعضاء لمفاوية(نقي العظم ، الطحال ، التوثة ، العقد اللمفاوية) وتفاعلات فرط الحساسية الآجلة والعاجلة Arthus &Delayed Type Hypersensitivity كذلك حساب تركيز خضاب الدم Hb ومعدل حجم خلايا الدم الحمر المضغوطة PCV .

المواد وطرائق العمل :-

اجريت جميع التجارب المناعية في هذا البحث على ذكور فئران مختبرية بيضاء albino miceبعدد 120 فأر وبأعمار تتراوح بين (8اسابيع و10أسابيع) عند بداية التجريع وتراوحت أوزانها بين (18-22غم) . قسمت هذه الفئران الى أربعة مجاميع حسب متطلبات كل تجربة ، اذ جرعت المجموعة الاولى بالماء المقطر كسيطرة سالبة والمجموعة الثانية بعقار الهيدروكورتيزون المثبط للجهاز المناعي كسيطرة موجبة ، أما المجموعة الثالثة والرابعة فقد جرعت بالمستخلص المائي الحار والكحولي الحار للحبة السوداء .

تحضير المستخلصات المائية والكحولية

تم الحصول على بذور الحبة السوداء من الاسواق المحلية (بغداد) وتم تنظيفها من الشوائب ، ثم طحنت باستخدام طاحونة كهربائية لغرض الحصول على مسحوق البذور الذي استخدم في تحضير المستخلصات . اذ تم تحضير مستخلصين احدهما مائي حار باستخدام طريقة (8) بينما اعتمدت طريقة (9) لتحضير المستخلص الكحولي الحار وقد تم الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلصين باستخدام طرق الكشف الكيميائي العام.

-استخدمت طريقة (10) وطريقة (11) في العد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض على التوالي.
-واتبعت الطريقة الاعتيادية في قياس خضاب الدم Hb والمسماة بطريقة ساهلي Sahlies method ، واعتمدت طريقة (12) في حساب معدل حجم كريات الدم الحمر المضغوطة PCV.
- تمت دراسة قابلية الخلايا البلعمية على التهام خلايا الخميرة المقتولة وفقا لطريقة (13) وحسبت المعادلة الاتية :-

معامل البلعمة = عدد الخلايا الملتهمة / العدد الكلي للخلايا البلعمية × 100

*استخدمت طريقة Allen وجماعته (14) لتحضير كروموسومات خلايا نقي العظم والطحال والتوثة والعقد اللمفاوية وقد تم حساب معامل الانقسام الخيطي من خلال استخدام الشرائح المحضرة في الطريقة السابقة ومن خلال تطبيق المعادلة الاتية :-

نسبة معامل الانقسام = عدد الخلايا المنقسمة / العدد الكلي للخلايا × 100

* استخدمت طريقة (15)لإجراء فحص تفاعل آرثس Arthus reaction وتفاعل فرط الحساسية الآجل Delayed type hypersensitivity .

التحليل الإحصائي :-

حللت البيانات وفق تحليل التباين باتجاهين وذلك باستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز (SPSS) Statistical Pakage for Social Scienses .

النتائج والمناقشة :-

1- الكشف الكيميائي التمهيدي العام عن المركبات الفعالة في مستخلصي الحبة السوداء

أظهرت نتائج الفحص الكيميائي العام لبعض المكونات الفعالة (القلويدات Alkaloid، الكلايكوسيدات Glycosides ، الفينولات Phenols ، الفلافونات Flavonoid ، الصابونيات Saponins ، الدباغيات Tanins ، الكومارينات Coumarins ، الراتنجات Resins ، التربينات Terpins والستيرويدات Steroids) والموضحة في الجدول (1) بأن كلا المستخلصين أعطيا كشفا موجبا من ناحية احتوائها على جميع المركبات الأساسية المذكورة فيما عدا انعدام الكومارينات والراتنجات في المستخلص المائي ، وهذا قد يعزى سببه الى كون هذه المواد لاتذوب في الماء إلابنسب محدودة جدا بحيث لايمكن الكشف عنها (16) بخلاف المستخلص الكحولي الحار الذي اعطى كشفا موجبا لهذه المواد لانها تذوب في الكحول وهذه النتائج تتفق مع ما اشار اليه كل من (17 و 18) .

2- السمية الخلوية للمستخلصات النباتية :-

اظهرت النتائج عدم امتلاك مستخلصي الحبة السوداء أية سمية على كريات الدم الحمر للأغنام إذ استدل على ذلك بعدم حصول تحلل دموي لتلك الخلايا وهذا ما أثبتته أيضا دراسة (17) في عدم حصول اية تاثيرات سمية للمستخلص المائي الحار والكحولي الحار للحبة السوداء . في حين كان التحلل الدموي واضحا عند استخدام الماء المقطر كسيطرة .

Unfiled Notes Page 2

3- تأثير المستخلص المائي الحار والكحولي الحار للحبة السوداء في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض :-

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (2) ان معاملة الفئران بعقار الهيدروكورتيزون (السيطرة الموجبة) ادت الى انخفاض معنوي ($p> 0.05$) في قيمة العدد الكلي لخلايا الدم البيض موازنة بفئران السيطرة السالبة (الماء المقطر) في حين لوحظ ان تجريع الفئران بالمستخلصين المائي الحار والكحولي الحار للحبة السوداء ادت الى حدوث زيادة في قيم العدد الكلي لخلايا الدم البيض واظهر المستخلص الكحولي زيادة معنوية $p <0.05$ ملحوظة في قيم العدد الكلي مقارنة السيطرتين (السالبة والموجبة) وبالمستخلص المائي الحار .

دلت نتائج العد التفريقي لخلايا الدم البيض والموضحة في الجدول (2) الى حصول انخفاض معنوي $p>0.05$ في معدل خلايا الدم البيض وحيدة النواة واللمفاوية والعدلة والحمضة والقعدة عند المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون في حين لوحظ زيادة معنوية $p<0.05$ في معدل الخلايا الوحيدة النواة واللمفاوية والعدلة عند المعاملة بالمستخلص المائي الحار والكحولي الحار للحبة السوداء حيث إن المستخلص الكحولي أظهر كفاءته في إحداث زيادة معنوية $p<0.05$ في معدلات الخلايا وذلك عند مقارنتها معدلاتها في السيطرتين وبالمستخلص المائي الحار .

اما بالنسبة لمعدل الخلايا الحمضة والقعدة فلم تظهر مجاميع المعاملات اختلافات معنوية $p<0.05$ فيما بينها عدا المستخلص المائي الحار للحبة السوداء الذي أظهر زيادة معنوية $p<0.05$ ولم يظهر المستخلص الكحولي أية فروق معنوية عند موازنتها بالسيطرتين بالنسبة لمعدلات الخلايا الحمضة والقعدة .

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (19) التي اشارت الى ان كلا من الخلايا اللمفية والوحيدة والعدلة تنخفض كنتيجة لإعطاء الهيدروكورتيزون وبالتالي يؤدي الى انخفاض العدد الكلي لخلايا الدم البيض ، اذ يستحث الهيدروكورتيزون حالة نقص الخلايا اللمفاوية Lymphocytopenia خلال اربع ساعات وان العد التفريقي لخلايا الدم اللمفاوية Lymphocyte count في الدم المحيطي يعود الى حالته الطبيعية خلال 24- 48 ساعة وان حالة النقص في الخلايا اللمفاوية تحدث كنتيجة لإعادة توزيع الخلايا اللمفاوية Lymphocyte Recirculation في جهاز الدوران إلى الأعضاء اللمفاوية الباقية مثل الطحال والعقد اللمفاوية ونقي العظم والتوثة (20) .

بينما لوحظ حدوث زيادة معنوية في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض في الفئران المعاملة بالمستخلصين المائي والكحولي الحار للحبة السوداء وهذه النتائج جاءت لتؤكد نتائج الدراسات السابقة فقد أشار(21) إلى أن تناول الماعز لبذور الحبة السوداء لمدة اسبوع وبمعدل 3غم يوميا أدى الى زيادة في العدد الكلي لخلايا الدم البيض والنسبة المئوية للخلايا اللمفاوية ، كذلك أظهرت مستخلصات الحبة السوداء وبعض مكوناته الفعالة مثل الثايموكوينون فعاليتها الوقائية في الدراسات الدموية من خلال فعلها الوقائي من انخفاض العدد الكلي لكريات الدم البيضاء الذي يسببه عقار cisplatin في الفئران (6).

كما أوضحت النتائج أن المستخلص الكحولي الحار كان أكثر كفاءة في رفع أعداد خلايا الدم البيض (الكلي التفريقي) من نظيره المائي الحار ، وربما يرجع السبب في ذلك الى ان المستخلصات الكحولية تحتوي على المركبات الموجودة في المستخلصين ، باعتبار الكحول المستخدم في عملية الاستخلاص كان تركيزه 70% يضاف لذلك قدرة الكحول على استخلاص المواد غير الذائبة في الماء ، لاسيما الأصباغ والفيتامينات (E,A) والزيوت الطيارة والتي تعزى إليها الكثير من التأثيرات العلاجية (22) .

نتائج الدراسة الحالية تدل على دور المستخلصين المائي والكحولي للحبة السوداء في التأثير في المناعة النوعية وغير النوعية ، اذ تتمثل المناعة النوعية بالخلايا اللمفاوية التي تعد أساسية في لاستجابة المناعية Adaptive Immune Responseمن خلال قيامها بتمييز الجراثيم وقتلها ، اما الخلايا العدلة والوحيدة النواة فتعدان الخط الدفاعي الاول في الجسم وهما ضروريتان في الاستجابة غير النوعية Innate Immune Response (23).

وقد تعزى هذه التاثيرات الى المكونات الفعالة مثل الصابونيات والفلافونات اذ تعود للصابونيات الفعالية المحفزة للمناعة غير النوعية مثل الالتهاب وتكاثر خلايا الدم وحيدة النواة (24)

4- تاثير المستخلصين المائي والكحولي الحار في مستوى خضاب الدم Hb ومعدل حجم خلايا الدم الحمر المضغوطة PCV :-

اظهرت النتائج حصول انخفاض معنوي $p < 0.05$ في معدلات خضاب الدم ومعدل حجم خلايا الدم الحمر المضغوطة PCV في مجموعة فئران السيطرة الموجبة المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون وذلك عند موازنتها بمعدلاتها في فئران السيطرة السالبة وكم موضح في الجدول (3) وقد يعزى السبب الى ان الهيدروكورتيزون ادى الى تثبيط تخليق الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA والذي يؤثر في تخليق البروتين مما يؤدي الى انخفاضه(25 و 26).

Unfiled Notes Page 3

وبالمقارنة فان المستخلصين المائي الحار والكحولي الحارللحبة السوداء اديا الى حصول ارتفاع معنوي$p< 0.05$ في مستويات خضاب الدم ورفع معدل حجم الخلايا الحمر . اذ اظهر المستخلص الكحولي الحار كفاءته في ذلك مقارنة بمستوياتها في مجاميع الفئران في السيطرتين السالبة والموجبة وبالمستخلص المائي الحار .

واتفقت نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة في رفع مستوى HB وPCV في مجاميع الفئران المعاملة بمستخلصي الحبة السوداء فقد أوضح الباحث (27)ان الحبة السوداء تعمل على الوقاية من الزيادة غير الطبيعية في pcv وفي دراسة قام بها الباحثين(24) اظهر زيت الحبة السوداء في الجرذان ان زيادة مستويات الهيموكلوبين Hb ومعدل حجم خلايا الدم الحمر الضغوطة PCV وهذا قد يفسر نتائج هذه الدراسة بالنسبة لخضاب الدم Hb في كون المستخلص الكحولي الحار للحبة السوداء كان اكفأ من المستخلص المائي الحار نظرا لكون الزيوت الطيارة التي يعود اليها هذا التاثيرتذوب في الكحول ولاتذوب في الماء .

5- تأثير المستخلصين المائي الحار والكحولي الحار للحبة السوداء في معامل البلعمة :-

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4) حصول انخفاض معنوي $p>0.05$ في قيمة معامل البلعمة للخلايا عند المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون وذلك عند موازنتها بقيمتها في السيطرة السالبة ، في حين لوحظ حصول زيادة معنوية $p <0.05$ في قيم معامل البلعمة في مجاميع الفئران المعاملة بالمستخلص المائي الحار والمستخلص الكحولي الحار للحبة السوداء وذلك موازنة بالسيطرتين السالبة والموجبة . واظهر المستخلص الكحولي الحار زيادة معنوية $p<0.05$ في رفع معامل البلعمة وذلك عند موازنتها بقيمها في المستخلص المائي الحار .

ان الهدف من اجراء اختبار البلعمة هو لمعرفة قدرة الجهاز المناعي غير النوعي لدى الفئران المعاملة بالمستخلصين المائي الحار والكحولي الحار ومدى تأثير فعالية الخلايا البلعمية في بلعمة خلايا الخميرة المقتولة بالحرارة ومن ملاحظة النتائج في الجدول (4) نجد زيادة معنوية في معامل البلعمة وقد تعزى هذه الزيادة الى كثرة نشاط الخلايا البلعمية (العدلة و وحيدة النواة و الخلية الملتهمة) المترافقة مع زيادة العدد الكلي والتفريقي للخلايا البيض والمتكون من زيادة معامل انقسام خلايا نقي العظم وذلك عند موازنته مع السيطرة السالبة والسيطرة الموجبة اذ سبب الهيدروكورتيزون حصول انخفاض معنوي في معامل البلعمة وقد يعود السبب في ذلك الى التاثير التثبيطي للهيدروكورتيزون لعملية البلعمة من خلال تثبيط انتاج عوامل الجذب الكيميائي من الخلايا البلعمية وعامل تنشيط الخلايا البلعمية (29).

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة في كفاءة مستخلصات الحبة السوداء في زيادة معامل البلعمة اذ لوحظ في احدى الدراسات ان الحبة السوداء تعزز من إنتاج IL-3 بواسطة الخلايا اللمفاوية للانسان بدون اضافة اية محفزات وكذلك لوحظ زيادة انتاج IL-1β وهذا يعني ان الحبة السوداء تؤثر على الخلايا البلعمية (4) وهذا يفسر نتائج الدراسة الحالية في قدرة مستخلصي الحبة السوداء في رفع قيمة معامل البلعمة للخلايا العدلة والوحيدة في الدم المحيطي .

6- تاثير المستخلص المائي الحار والكحولي الحار في معامل الانقسام الخلوي :-

اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (5) انخفاضا في معدل معامل انقسام الخلايا عند المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون في الاعضاء اللمفاوية الاربعة (نقي العظم ، الطحال ، التوثة ، العقد اللمفاوية) وكان الانخفاض معنويا $P>0.05$ بالنسبة لمعامل انقسام خلايا التوثة والعقد اللمفاوية وذلك عند موازنتها في معامل الانقسام الخلوي لاعضاء فئران السيطرة السالبة . في حين لوحظ زيادة معامل الانقسام الخلوي لخلايا الاعضاء الاربعة عند معاملة الفئران بمستخلصي الحبة السوداء وكان المستخلص الكحولي الحار أكفأ من المائي الحار في إحداث هذه الزيادة في معامل الانقسام الخلوي في نقي العظم والطحال والتوثة .

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصلت اليه الباحث (7) في ان مستخلصات الحبة السوداء تعمل على زيادة معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم وهذا ما أكده الباحث (22)والذي اوضح ان مستخلصي بذور الحبة السوداء (المائي والكحولي) احدثا زيادة في نسب معامل الانقسام الخيطي لخلايا نقي العظم والخلايا الجنسية وكانت الزيادة مرتبطة بزيادة الجرعة ، وربما يرجع السبب في زيادة معامل الانقسام لخلايا الأعضاء اللمفاوية الأربعة الى ان المستخلصين المائي والكحولي للحبة السوداء يحتويان على مواد محفزة لعملية الانقسام ويؤكد هذا الاستنتاج ما اشار اليه الباحث (4) من ان مستخلصي الحبة السوداء يحتويان على مواد محفزة mitogen من خلال قدرتها على تحفيز الخلايا اللمفاوية على الانقسام خارج الجسم الحي بدون اضافة مادة محفزة . وقد اشارت الدراسات السابقة ان معاملة الفئران بالثايموكوينون والمستخلص الكحولي لبذور الحبة السوداء اضفت حماية للخلايا المعزولة من نقي العظم والطحال من خلال انخفاض معدلات الزيغ الكروموسومي chromosomal aberration (30).

Unfiled Notes Page 4

وهذا يعني ان التاثيرات الوقائية للثايموكوينون تعود الى تاثيره الوقائي للخلايا cytoprotective effect وتاثيره المضاد للاكسدة وتاثيره على بعض النواقل في الالتهاب(31).

وقد ظهرت فعالية الحبة السوداء المحفزة للانقسام واضحة من خلال اختزاله تاثير عقار cis platin الذي يعمل على كبح الانقسام الخلوي في نقي العظم mylosuppression (32).

7- تأثير المستخلصين (المائي والكحولي)الحار للحبة السوداء في تفاعل ارثس وتفاعل فرط الحساسية الآجل :-

تشير النتائج الموضحة في الجدول(6) الى حصول انخفاض معنوي $P>0.05$ في معامل تفاعل ارثس وتفاعل فرط الحساسية الآجل في الفئران المعاملة بعقار الهيدروكورتيزون موازنة بقيم هذين المعاملين في السيطرة السالبة ،في حين اظهر المستخلص المائي الحار للحبة السوداء كفاءته في رفع معامل تفاعل ارثس كما لوحظ حصول زيادة معنوية $P<0.05$ في قيم معامل تفاعل ارثس في مجاميع الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي الحار للحبة السوداء موازنة بقيمها بالسيطرتين وبالمستخلص المائي الحار .

هدفت الدراسة الحالية إلى قياس تفاعل ارثس وذلك لبيان قابلية المستخلصين (المائي والكحولي للحبة السوداء) على تحفيز المناعة النوعية وإنتاج الأضداد في الفئران إذ من المعروف عن تفاعل ارثس انه يعتمد في الأصل على الجهاز المناعي النوعي وانتاج الأضداد وتكوين odema نتيجة لتجمع خلايا الدم المتعددة أشكال النوى PMN وذلك بعد مرور أربع ساعات على الحقن وتعتمد شدة الاستجابة على جرعة المستضد المحقون تحت الجلد(23).

النتائج الايجابية في الدراسة الحالية قد تكون متوقعة إذا أخذنا بالحسبان معامل انقسام خلايا نقي العظم والطحال التي أظهرت هي الأخرى زيادة ايجابية انعكست على تفاعل ارثس متمثلا استجابة مناعية ثانوية أعلى مما هي عليه في حيوانات السيطرة التي لم تجرع المستخلصين المائي والكحولي لقابلية المستخلصين وخاصة الكحولي في تعزيز المناعة النوعية والتي يمكن إن تعزى إلى الفيتامينات التي يحتويها نبات الحبة السوداء مثل فيتامين (A,E,C) اذ لوحظ ان الغذاء الحاوي على مستويات عالية من فيتامين E يعزز من الاستجابة المناعية وقد تم اثبات ذلك عندما تمت تغذية حيوانات مختبرية على غذاء ينقصه فيتامين E قلت الاستجابة المناعية لديها ، وعلى العكس لوحظ عند تغذيتها على غذاء غني بفيتامين E فانه حفز الاستجابة المناعية . وتحافظ المستويات العالية من فيتامين C على مستويات فيتامين E ، وهذا يعني بصورة غير مباشرة في الدعم المناعي الذي يقوم به فيتامين E وقد لوحظ فشل حساسية الجلد للمحفزات mitogens في حالة نقص فيتامين AوC وهذا يدعم دور الفيتامينات في الاستجابة المناعية (33) .

وهذا يفسر التحفيز المناعي الذي سببه المستخلصان المائي والكحولي للحبة السوداء فقد أشارت الدراسات الى ان بذور الحبة السوداء غنية بفيتامين E (Tochopherol) كما تحتوي على فيتامين A و C (34) .

أظهر مستخلصي الحبة السوداء زيادة في قيم تفاعل فرط الحساسية والناتج من دور المستخلص الكحولي للحبة السوداء قي تنشيط الاستجابة المناعية الخلطية والخلوية Cellular immune response(CIR) وهذا التنشيط قد يعزى الى احتواء الحبة السوداء على فيتامين A الذي اكدت الدراسات انه يعمل على تحفيز المناعة الخلوية والخلطية معا وتبين من خلال دوره التحفيزي في تحول الخلايا اللمفاوية في الطحال Spleen lymphocyte transformation ليس فقط في الخلايا المحسسة بالمحفز Phytoheamagglutinin(PHA) ولكن ايضا في الخلايا T- cell الطبيعية .

جدول (1) الكشف الكيميائي عن المركبات الكيميائية الفعالة في مستخلص الحبة السوداء

المركب	الكاشف المستخدم	دليل الكشف	الحبةالسوداء	
			مائي	كحولي
القلويدات Alkaloids	كاشف ماير	راسب ابيض	+	+
الكلايكوسيدات Glycosides	كاشف بندكت	راسب احمر	+	+
الفينولات Phenols	كلوريد الحديديك 1%	لون اخضر مزرق	+	+
الفلافونات Flavonoids	كحول اثيلي + هيدروكسيد البوتاسيوم	لون اصفر	+	+
الصابونينات Saponins	أ. رج المستخلص ب. كلوريد الزئبقيك 1%	رغوة كثيفة ولمدة طويلة راسب ابيض	+ +	- +
التانين Tannins	كلوريد الحديديك 1%	ظهور لون اخضر مزرق	+	+
الكومارينات Coumarins	ورق ترشيح مرطبة بهدروكسيد الصوديوم + U.V	لون اخضر مزرق	-	+
الراتنجات Resins	كحول مثيليغليان ماء محمض بـ HCL	عكارة	-	+
التربينات والستيرويدات Terpins and Steroids	الكلوروفورم + حامض الخليك اللامائي + حامض الكبريتيك المركز	لون بني للتربين ولون ازرق داكن بستيرويد	+	+

العلامة (+) تدل على ان الكشف موجب
العلامة (-) تدل على ان الكشف سالب

Unfiled Notes Page 5

جدول (2)تأثير المستخلص النباتي (المائي والكحولي) لنبات الحبة السوداء في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض في ذكور الفئران

المجاميع	العدد الكلي (M±SE)		خلايا وحيدة النواة (M±SE)		الخلايا اللمفاوية (M±SE)		الخلايا العلة (M±SE)		الخلايا الحمضة (M±SE)		الخلايا العقدة (M±SE)	
	مائي	كحولي	مائي	كحولي	مائي	كحولي	مائي	كحولي	مائي	كحولي	مائي	كحولي
السيطرة السالبة	b 0.66±7.6		ab 0.19±0.84		a 0.33±4.88		b 0.33±2.7		a 0.02±0.02		a 0.01±0.02	
السيطرة الموجبة	a 0.29 ± 5.8		a 0.06 ± 0.34		b 0.12 ± 4		a 0.08±0.6		a 0		a 0	
الحبة السوداء	B, c 12.15 ± 0.61	A,d 14.17 ± 1.46	A,b 1.26 ± 0.21	A,a 1.21 ± 0.21	B,d 6.17 ± 0.34	A,c 10.56 ± 1.06	B,c 4.33 ± 0.68	A,b 2.26 ± 0.27	A,b 0.66 ± 0.16	B,a 0.13 ± 0.01	B,b 0.66 ± 0.16	A,a 0.03 ± 0.02

خلايا الدم البيض/ ملم^3. دم 10X

- الحروف الصغيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي عمودياً (P<0.05).
- الحروف الكبيرة المختلفة تعني وجود فرق معنوي افقياً (P<0.05).

الجدول (3) تأثير المستخلص النباتي (المائي و الكحولي) في مستوى خضاب الدم (Hb) و معدل حجم خلايا الدم الحمر المضغوطة (PCV) في ذكور الفئران البيض

نوعية المستخلص	المعيار	السيطرة السالبة (SE±M)	السيطرة الموجبة (SE±M)	الحبة السوداء (SE±M)
المستخلص المائي	Hb	b 0.36±9.5	a 0.22±8.33	B, d 0.19±10.7
	PCV	b 0.61±29.5	a 1.41±26	A,c 1.09±31.16
المستخلص الكحولي	Hb	b 0.36±9.5	a 0.22±8.33	A, d 0.34±13.26
	PCV	b 0.61±29.5	a 1.41±26	A,b 1.09±33

* الحروف الكبيرة المختلفة (A, B) تعني وجود فرق معنوي عمودياً (P<0.05).
*الحروف الصغيرة المختلفة (a, b, c, d) تعني وجود فرق معنوي افقياً (P<0.05).

الجدول (4)تأثير المستخلص النباتي (المائي و الكحولي) في معامل البلعمة في ذكور الفئران. معامل البلعمة (%) (المعدل ± الخطأ القياسي).

المجاميع	السيطرة السالبة (SE±M)	السيطرة الموجبة (SE±M)	الحبة السوداء (SE±M)
المستخلص المائي	b	a	B, d 1.55±65.66
المستخلص الكحولي	1.22±37	1.08±25	A,d 2.38±71

* الحروف الكبيرة المختلفة (A, B) تعني وجود فرق معنوي عمودياً (P<0.05).
* الحروف الصغيرة المختلفة (a, b, c, d) تعني وجود فرق معنوي افقياً (P<0.05).

Unfiled Notes Page 6

جدول (5)تأثير المستخلص النباتي لنبات الحبة السوداء في معامل الانقسام في ذكور الفئران في خلايا الاعضاء اللمفاوية (نقي العظم , الطحال , التوثة , العقد اللمفاوية)

النسبة المئوية لمعامل الانقسام الخلوي في الاعضاء اللمفاوية(المعدل±الخطاالقياسي)								
المجاميع	نقي العظم		الطحال		التوثة		العقد اللمفاوية	
	مائي	كحولي	مائي	كحولي	مائي	كحولي	مائي	كحولي
السيطرة السالبة	a 0.28±2.9		a 0.3±1.91		b 0.3±2.17		b 0.14±1.6	
السيطرة الموجبة	a 0.16±1.55		a 0.1±1.11		a 0.2±1.5		a 0.02±0.75	
الحبة السوداء	c,B 1.03±9.23	c,A 0.27±10.36	b,B 0.58±4.18	c,A 0.37±7.71	c,A 0.22±4.6	c,A 0.23±5.39	c,A 0.16±3.88	d,A 0.05±3.93

* الحروف الكبيرة المختلفة (A, B) تعني وجود فرق معنوي عمودياً (P<0.05).
* الحروف الصغيرة المختلفة (a, b, c, d) تعني وجود فرق معنوي افقياً (P<0.05).

الجدول(6): تأثير المستخلص النباتي لنبات الحبة السوداء في تفاعل ارثس و تفاعل فرط الحساسية الاجل في ذكور الفئران

نوعية المستخلص	المعيار	السيطرة السالبة	السيطرة الموجبة	الحبة السوداء
المستخلص المائي	**تفاعل ارثس	b 0.05±0.77	a 0.08±0.46	B, ab 0.03±0.61
	تفاعل فرط الحساسية	ab 0.08±0.46	a 0.04±0.3	A,b 0.06±0.56
المستخلص الكحولي	تفاعل ارثس	b 0.05±0.77	a 0.08±0.46	A, d 0.08±1
	تفاعل فرط الحساسية	ab 0.08 ±0.46	a 0.04±0.3	A,b 0.02±0.55

* الحروف الكبيرة المختلفة (A, B) تعني وجود فرق معنوي عمودياً (P<0.05).
* الحروف الصغيرة المختلفة (a, b, c, d) تعني وجود فرق معنوي افقياً (P<0.05).
**تفاعل ارثر يستخدم للكشف عن المناعة الخلطية في الحيوان

المصادر:

1-Randhawa, MA. &AL-Gamdi , MS. 2002. Areview of pharmaco – therapeutic effects of Nigella sativa Pakistan J . M.R.Res .;41(2).

2- مجيد ،سامي هاشم ومحمود ، مهند جميل . 1988 . النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي ، مجلس البحث العلمي ، مر عن بحوث علوم الحياة ، قسم العقاقير وتقسيم الادوية .

3- EL-Kadi A, Kandil , O.1986 . Effect of *Nigella sativa* (the black seed) on immunity . procdeeding of the 4th International conference on Islamic Medicine , Kuwait Beel Islamic Med. 4:344-8.

4- Haq , A; Abdullatif , M ; Lobo,PI.; Khabar , KS.; Sheth ,KV. & AL-Sedairy .ST. 1995. Nigella sativa :Effect on human lympho cytes and polymorphonuclear Leucocyte phagocytic activity . Immuno pharmacology .30(2):147-55 .

5-Haq A; Lobo , PI.; AL- Tufail , M.; Rama ,NR;& AL-Sedairy ,ST. 1999. Immunomodulatory effect of Nigella sativa proteins fractionated by ion exchang chromato graphy . Int . J Immuno pharmacol 1999 .21(4):283-5.

6-Nair,SC.;Salomi,MJ.&panikkar KR.1991,Modulatary effects of crorcus Sativus & *Nigella Sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in mice. J Ethnopharmacol. 31(1):75-83.

Unfiled Notes Page 7

7-العزاوي ، عبير فؤاد نعيم. 1999. الحماية من التاثيرات السمية الوراثية للاشعة المؤينة باستخدام الحبة السوداء .رسالة ماجستير/ كلية التربية للبنات / قسم علوم الحياة / جامعة بغداد.

8-Sakai,Y.;Nagase,H.Ose,Y.;Sato,T.; Yamada,A. ;Hibi,M. &Yamada,F. 1986: Antimutagenisity of extracts from crud drugs in Chinese medicine. Mutant. Res..(147):1-4.

9-Harborn,J.B.1984.phytochemical methods.2ed (Ed.).Chapman and Hall.P.288.

10-Harris-Young,L.1995.Principles of Hematology.Wmc.Brown Puplishers, U.K.

11-Myers,R.L.1995.Laboratory manual of immunology.2ed m.c. Brown Puplishers. U.S.A.

12-Dacie,J.V&Lewis,S.V.1984. Practical heamatology, 6thEd. Churchil Livingston.

13-الشيخلي ، محمد عبد الستار ، مزيان حسن عبد الجليل وفريال حسن العزاوي وحسن فياض 1993الكيمياء الحياتية . الجامعة المستنصرية .

14-Allen,J.W;Shuller,C.F.;Mendes,R. W. & att,S.A.1977.Asimplified technique for invivo analysis of sister chromatid exchange using5-bromodeoxy Uridine tablets-cytogenetics. 18:231-237.

15- Triolo , A . J .; Osterholm , J . L . & Kratky , M . T . 1989- Enhancement of the Arthus reaction and Suppression of Delayed – Type Hyper sensitivity (DTH) By pluronic F68 , a detergent Frequently used to prepare perfluoro carbon Emulsions . Int . J . immuno phar mac . 11:41-48 .

16-الشحات ، نصر ابو زيد 1986.النباتات والاعشاب الطبية . دار البحار – بيروت .

17-حسن، مفيد قائد احمد. 2002. استخدام بعض المستخلصات النباتية لتثبيط الاثر السمي الوراثي لبعض العقاقير المضادة للسرطان في الفار. اطروحة دكتوراه /كلية العلوم / جامعة بابل.

18-Ansari,A.A.;Hassan,S.;Kenne,L.; Rahman,A.,and Whler,T 1988. Structurul studies on saponin isolated from *Nigella sativa*.Phytoc hemistry. 27(12):3977-3979.

19-Smith,S.L.2002. Immunosuppressive therapies in organ transplantation.Mn Phd .web site: http : \\www . medscape . com \ viewarticl \ 437182.

20- Fauci,AS.and Dale,DC.1975.The effect of hydrocorteson on kinetics of normal human lymphocytes. Blood. 46:235-243.

21-. EL-Sarha , AI .; Hassan , HY . & Said , KM .1997 . Heamato – Bio chemical changes induced by oral administra– tion of Nigella sativa (Black Seed) To Goats .J . Egypt . Ger . Soc Zool .22(A):69-83 .

22-شبر ،اسماعيل كاظم،مفيد قائد احمد وسعد جابر تاج دين .2002. تثبيط الاثر السمي الوراثي للعقار cyclophosphamide باستخدام مستخلصات من بذور حبة البركة *Nigella sativa* .النوة التخصصية لبحوث الحبة السوداء.10 ايار.كلية الصيدلة.جامعة بغداد.

23-Roit,I & Rabson,A.2000.Really Essential Medical Immunology.b.Blackwell science.

24- Francis , G .; Kerem , Z .; Makkar , HP .S . &Becker , K . 2002 . The biological action of saponins in ani mal systems : areview . British Journal of Nutrition 88: 587-605 .

25- الحمدان،علياء عبداللطيف عبدالجبار.2004.دراسة بعض التأثيرات المناعية والخلوية الناجمة عن استخدام عقار الهيدروكورتيزون Hydrocortisone وبذور الحلبة Fenugreek seed في الفئران البيض Albino mice. رسالة ماجستير .كلية العلوم للبنات-جامعة بغداد.

26-Rogers, P.& Rogers,A. 1982. Differential sensitivity of lymphocyte subsets to corticosteroid treatment. Immunol. 46 (4) :841-848.

27- El-Daly,E.S.1996.Protective effect of cystein and vitamin E,Croccus sativus and *Nigella sativa* .J.Ethnopharmacol 76:45-8.

lagical proportion of *Nigella Sativa* . copyright Johin Wiley & sons Ltd . Saudi Arabia .
32- Shoieb , AM ; Elgayyar , M .; Dudrick , P.S .; Bell , JL; & Tithhof , PK .2003 . In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in canccr cell lines by thymoquinone . International Journal of oncology 22:107-113 .
33- Bendich , A .1988 . Vitamin E and immune functions.Basic Life Sci . J . 49 : 615 – 20 .
34-Ramadan ,N.F.and Morsel ,J.T.2002.Natural lipied calasses of black cumin(Nagella sativia L.)seed oil.Food Res.Tech. 214: 202-206.
28- Zaoui , A .; Cherrah , Y.; ALoui , K,; Mahassine ,N . Amarouch , H . & Hassar, M . 2002. Effect of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat . J . Ethnophar macol .79(1):23-6
29-Claman, H.N. 1983. Glucocorticosteroids: Anti-inflammatory mechanisms.Hosp Pract. 18:123-134.
30-Aboul-Ela.(2002).Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extracts and thymoquinone on mouse cells infected with schistosomiasis using karyotyping. Mutation Res.(516):11-17.
31- Ali , BH .& Blunden , G. 2003 . Pharmacological and Toxico

The effect of hot water and ethanol extract of *Nigella sativa* in immune system of Albino Mice

Al-Zendi,S.K.J.* ***Jasim,A.N**** ***AL-Mousawi,A.H.*****

*University of Kirkok, College of science.
**Assistant Pro. University of Baghdad, College of science for women.
***Prof. University of Baghdad, College of science for women.

Key words: *Nigella sativa*, immunity and *Nigella sativa*,

Abstract:

The result showed that hot water and ethanol extracts of *Nigella sativa* contain alkaloids ,saponins, flavonoids,tannins,glycosides,terpins and steroids. Albino mice were administered orally with 0.1 of the extract at dose of 100 mg/kg, body weight the results showed high level of white blood cell ,total and differential count of WBC,phagocytosis index, mitotic index, Arthus and delayed type hypersensitivity.

The result, also showed high level of hemoglobin (Hb) and the packed cell volume (PCV) the alcoholic extract has been found more efficient than hot water extract on mice.