تأثير تراكيزمختلفةمن المستخلص المائي الخام لنبات النعناع في خصوبةاناث الفئران البيضAlbino Female mice

رسميه حياوي مراد العكيلي*

تاريخ قبول النشر2007/1/23

الخلاصة:

استخدم في الدراسه المسخلص المائي الخام لنبات النعناع بالتراكيز (7%,14% ,21%) لدراسة تاثيرها في التركيب النسجي للمبيض وفي خصوبة اناث الفئران البيض ، وذلك بالتجريع عن طريق الفم مدة (45) يوماً و استخدمت في التجربه(40) فاره بيضاء , بعد انتهاء فترة التجريع سحب الدم لغرض قياس مستوى بعض الهرمونات الجنسيه في مصل الدم ، وتم استئصال المبايض لغرض الدراسة النسيجية .

لقد أظهرت النتائج إن تجريع المستخلص المائي للنبات ادى الى ظهور زياده معنويه $P< 0.05$ في مستوى الهرمون التصفيري L H و هرمون الاستراديول Estradiol والهرمون المحفز للجريبات FSH وخاصة عند التركيز 7% والتركيز 14 % ، اما التركيز 21% فلم يظهر فرق معنوي في تركيز هذه الهرمونات مقارنتاً بالسيطره . اما الدراسه النسجيه فقد اظهرت وجود زياده معنويه في عدد الجريبات وبجميع مراحلها فضلا عن زيادة اقطارها وذلك عند المعامله بالتركيز 7% ، في حين اظهرت المعامله بالتركيزين 14% ، 21% وجود انخفاض واضح في اعداد واقطار الجريبات . نستنتج من هذه الدراسه ان تجريع المستخلص المائي لنبات النعناع له تاثير تنشيطي في حالة استخدامه بتراكيز (واطئه 7%) غلى الجهاز التناسلي الانثوي إذ يؤثر ايجابيا في خصوبة اناث الفئران البيض ، اما التراكيز العالية منه فلها تاثير تثبيطي على الجهاز التناسلي الانثوي وبالتالي تؤثر سلبا في خصوبة اناث الفئران البيض .

المقدمة :

تزايد الاهتمام بالأعشاب الطبية في معظم دول العالم ، واصبحت تحتل مكانه متميزه في المجال الدوائي والصناعي والزراعي ، فقد عرف الناس خطر التاثيرات الجانبيه للادويه الكيميائيه المستخدمه مما دفعهم الى العوده لاستعمال النباتات الطبيه . وفي الوقت الحاضر مامن صيدليه تخلو من الاعشاب الطبيه . علما بان الكثير من الادويه والعقاقير الكيميائيه هي من اصل نباتي (الزبيدي واخرون ، 1996) ، من العوامل التي شجعت على استخدام الاعشاب هو انها امينه وذات تاثيرات جانبيه قليله او تكاد تكون معدومه مقارنتا بالعلاجات الكيمياويه (Marcus,2002) ان احد النباتات ذات الاستعمال الطبي هو نبات النعناع Mentha spicata spearmint فقد اشارت العديد من البحوث الى ان لهذا النبات تاثيرات عديده على الجهاز التكاثري الانثوي (الزبيدي واخرون ، 1996) وان نبات النعناع واسع الانتشار في معظم بقاع العالم ويعتبر واحد من نباتات الحدائق الاكثر شعبيه والمتعدد الاستعمالات (Shuman and Douglas,2002) ويعد النعناع من النباتات المهمة لاحتوائه على العديد من المركبات الفعاله طبيا . اذ يحتوي على الزيوت الطياره Volatile Oil, والذي يوجد بنسبة(0.8 – 2.5 %)، (PDR for herbal medicines ,1998) ويحتوي كذلك على مركب ال Carvone بنسبة (55%) ، (British pharmacopoeia , 1993) وكذلك يحتوي النعناع على مركبات الـ Flavonoids ,ومن بينها مركب الثايمونين . ويحتوي ايضا على مشتقات حامض الكافئك Cafeic acid derivatives ، وعلى مركبات الاستر والتربينات وبصوره رئيسيه على مركب Limonene ، (PDR for herbal medicines 1998) وكذلك يحتوي على المنثول (رويحه ، 1983) ومركبات الراتنج (الزبيدي واخرون ، 1996) وهو غني بالفيتامينات وخاصة A , B . والنعناع ذو محتوى عالي من الكالسيوم والمغنيسيوم والكبريت والبوتاسيوم والصوديوم والحديد , (Reprotox data base ; NOISE ; 2002) ، ويحتوي كذلك على مركب Pulegone ، (Nair , 2001 ; fuchs et al , 2001) . يستعمل نبات النعناع لمعالجة عسر الطمث وقئ الحمل ويعتبر من مضادات الزكام (الزبيدي واخرون ، 1996) ويستخدم كذلك في معالجة سوء الهضم . (Miller , 1998) ، ويعتبر مضاد للمغص وطارد للغازات (Reprotox data

*قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات / جامعة بغداد .

base ; NOISE ; 2002 . يعود النعناع الى جنس Ocimum التابع للعائله الشفويه ، اذ تستعمل افراد هذه العائله في انهاء الحمل غير المرغوب فيه ووجد بان نباتات هذه العائله فعاله ايضا في منع او اعاقة الحمل في العديد من الحيوانات المختبريه (Sharma and Jocob , 2001) . كما ان الزيوت الطياره التي يحتوي عليها النبات تكون قادرة على اثارة وتحفيز الفعاليه الرحميه (Potter, 1902) . ولما كان الاهتمام متزايد بعمليات التكاثر الجنسي كونه النتيجه النهائيه للتناسل وان اي خلل في هذه الناحيه سوف يؤدي الى خسارة كبيرة في الزمن واختزال القدرة التناسليه او انعدامها ، فقد كان دافعا لاجراء هذه الدراسه للتعرف على مدى تاثير مستخلص نبات النعناع على بعض عوامل الخصوبه في اناث الفئران البيض .

المواد وطرق العمل :

الحيوانات :

شملت الدراسة على استخدام اربعون انثى من الفئران البيض البالغة وبعمر شهرين ، تم الحصول عليها من مركز بحوث التقنيات الاحيائيه في جامعة النهرين . وضعت الحيوانات في اقفاص بلاستيكيه وفي ظروف تهويه جيده واضاءه مدتها 12 ساعه يوميا ، ودرجة حراره تتراوح بين 22–28 م° اما الغذاء (العليقه الجاهزه) والماء فكانا متوفران بشكل حر طوال التجربه .

تحضير المستخلص المائي الخام للنبات :

تم جمع الأوراق الطريه لنبات النعناع بعد ان تم تشخيصها وتحديد جنس ونوع النبات . جففت الاوراق بحسب (رويحه ، 1983) . تم طحن الاوراق الجافه وتحضير المستخلص المائي الخام لها . حُضر المستخلص المائي الخام بثلاثة تراكيز متسلسله وهي :

(7% ، 14% ، 21 %) . ومن اجل تحضير التركيز الاعلى 21% تم وزن 75 غم من مسحوق الاوراق ووضع في دورق سعة 500 مل ، اضيف اليه 250 مل من الماء المقطر ، وترك مدة 24 ساعه في درجة حرارة 4 مْ مع المزج المستمر ثم طبقت عليه الخطوات التاليه : رشح المنقوع باستعمال الشاش الطبي المعقم اولا ومن ثم استعمل ورق الترشيح استخدمت طريقة الترشيح بالتفريغ بوساطة قمع بخنر Buchner funnel ، توخيا للسرعه ثم ترك الراشح يجف ووجد ان وزن الراسب 21 غم واضيف اليه 100 مل من الماء المقطر . اما عند تحضير 14 % فقد تم وزن 50 غم من مسحوق الاوراق الجافه ، في حين وزن 25 غم عند تحضير التركيز 7% وطبقت نفس الخطوات المذكوره سابقا .

(العبيدي ،1996 ؛ Mat sumoto et al) . استعملت هذه التراكيز لتجريع الفئران عن طريق الفم .

طريقه التجريع وفترة التجريع :

قسمت الحيوانات الى اربعة مجامبع تجريبية بواقع عشرة فئران للمجموعه الواحده .

المجموعه الاولى / 10 فئران جرعت بالتركيز 21 % من المستخلص

المجموعه الثانيه / 10 فئران جرعت بالتركيز 14 % من المستخلص

المجموعه الثالثه / 10 فئران جرعت بالتركيز 7% من المستخلص

المجموعه الرابعه / control 10 فئران جرعت بالماء المقطر / كمجموعة سيطرة

تم تجريع الحيوانات عن طريق الفم باستخدام ماصه دقيقه Micropipte بحجم 1 مل ، اعطيت الجرعات عن طريق الفم لمدة ستة اسابيع وتم حساب الجرعه نسبة الى وزن جسم الفاره اذ كانت الجرعه الكليه نسبة الى وزن الجسم في حالة التركيز 21% تساوي 42. 0 غم (420 ملغم) ويكون حجم الجرعه الكليه التي جرعت خلال فترة التجربه التي استغرقت ستة اسابيع تساوي : 2 مل من حجم المستخلص ثم تقسيم هذا الحجم (2مل) على عدد الجرعات التي اعطيت للفاره خلال مدة التجربه والتي كانت بواقع اربعة جرعات اسبوعيا وبذلك يكون حجم الجرعه الواحده 0.1 مل ، وبنفس الطريقه تم حساب حجم الجرعات بالنسبه للتراكيز الاخرى (14% ، 7%) وبعد انتهاء مدة التجريع تم قتل الحيوانات بطريقة خلع الرقبه ثم تم الحصول على عينات الدم بطريقة طعنة القلب (Sharma and Jocob, 2001) . للحصول على اكبر كميه ممكنه من الدم باستعمال محقنه طبيه لغرض سحب الدم من كل فاره . تم وضع الدم في انابيب بندروفت معقمه ، تم عزل المصل مباشرةً بعد سحب الدم اجريت الفحوصات الهرمونيه عليه ، باستخدام طريقة Mvidas .

تم تشريح الحيوانات واستخراج المبايض وبعد وضعها في محلول ملحي فسيولوجي وازالة النسيج الدهني والانسجه الرابطه الاخرى ، جففت بورق ترشيح ، وثبتت باستخدام نوعين من المثبتات وهما الفورمالين 15 % ومحلول بوين Bouins solution ، وذلك تمهيدا لعمل المقاطع النسيجيه باتباع طريقة الطمر بشمع البارافين مع التصبغ بصبغتي الهيماتوكسلين والايوسين (Bancroft

and stevens , 1982) اجريت هذه العمليه لكل من المبايض كلٌ على حده لنماذج من كل مجموعه من المجاميع الاربعه . فحصت كافة الشرائح النسيجيه تحت المجهر الضوئي المركب بهدف تعيين اقطار جريبات كراف الناضجه وذلك باستخدام المقياس العيني الدقيق . Ocular micrometer ، لتسجيل البيانات الخاصه باقطار الجريبات الناضجه ، تم اخذ قراءتين متعامدتين لكل جريب ناضج ومعدلها يمثل قطر الجريب . قيست الاقطار لكل الجريبات الناضجه الظاهره في المقطع النسيجي الواحد كررت هذه العمليه لخمس شرائح نسيجيه متسلسله من كل مبيض من مبيضي الفاره الواحده ونفس الاسلوب استخدم لكل افراد المجموعه المعينه . وكذلك استخدم نفس الاسلوب لحساب عدد واقطار الجسم الاصفر .

التحليل الاحصائي :

تم تحليل النتائج احصائياً باستعمال اختبار Anova لتحليل التباين وبعدها اختبرت معنوية الفروق بين المعدلات باستعمال اختبار Duncan Multiple Range test (Duncan , 1955) .

النتائج والمناقشه :

أظهرت الدراسه ان تجريع المستخلص المائي الخام للنعناع لهُ تأثير على مستوى الهورمونات المبيضيه وبالتالي على الخصوبه ، فقد سجلت النتائج ارتفاع معنوي $P<0.05$ في تركيز هرمون LH ولجميع التراكيز مقارنتآ بالسيطره (جدول رقم 1) ، في حين لم تظهر النتائج فروقات معنويه واضحه بالنسبه لهرمون FSH في حالة المعامله بالتركيزين 21% ، 14 % مقارنتآ بالسيطره . بينما اظهرت النتائج ارتفاع معنوي واضح $P< 0.05$ في تركيز FSH بالنسبه للحيوانات المجرعه بالتركيز 7% (جدول رقم 1) وكذلك اوضحت النتائج وجود زياده معنويه عاليه في مستوى هرمون Estradiol بالنسبه للحيوانات المجرعه بالتركيز 7% (المجموعه الثالثه) من المستخلص المائي مقارنتآ بحيوانات السيطره (جدول رقم 1). اما الفحص المجهري فقد اظهر تاثيرات واضحه في التركيب النسيجي لمبيض الفئران المجرعه مقارنتآ بالسيطره (شكل1) . اذ اظهر الفحص النسيجي زياده واضحه في عدد الجريبات المبيضيه الابتدائيه والثانويه ، (شكل 4) وخاصة في المجموعه الثالثه (جدول رقم 2) ، بينما لوحظ ان اعداد الجريبات الابتدائيه والثانويه والاجسام الصفر قلت اعدادها فضلا عن صغر حجم المبيض في ا لمجموعتين الاولى والثانيه (14%، 21%) ، (شكل3) مقارنتآ بالمجموعة الثالثة (7%) اذ اظهر الفحص المجهري لهذه المجموعه زياده واضحه في حجم ونشاط المبيض (شكل 2) ، لقد توصل Hall and Guyton (1996) الى ان تحفيز الجريبات المبيضيه يعتمد على هرمون الاستراديول اذ يعمل على زيادة حجم المبيض وفي الوقت نفسهٌ يؤثر على الظهاره المخاطيه المبطنه للبوقين بالاضافه الى تحفيز فاعلية الاهداب ، وجعلها تقترب دائمآ باتجاه الرحم لتساعد في وضع البيضه المخصبه نحو الرحم . ان تحفيز الجريبات المبيضيه للتطور الى مستوى انتاج هرموني FSH , LH من الغده النخاميه واي عامل يؤثر على انتاج هذين الهرمونين سيؤدي الى اضطراب تحفيز الجريبات وتطورها ، وان تطور الجريبه المبيضيه من مرحلة الجريبه الاوليه الى جريبة كراف يتم من خلال عمليتن هما تكاثر الخلايا والثانيه تمايزها وان اي عامل يؤثر على هاتين العمليتن سيؤثر على الجريبات كما ان هاتين العمليتين تنظمان من قبل FSH ,LH (Rechards and Kersey ,) 1980 ، ونعتقد ان زيادة عدد الجريبات المبيضيه في المجموعه المجرعة بالتركيز 7% من المستخلص المائي للنبات ، يعود الى ان هذا التركيز من المستخلص عمل على زيادة مستوى الهرمون المحفز للجريبات FSH وكما هو موضح في الجدول رقم –1–، ويتضح من الجدول ايضآ وجود زياده كبيرة في عدد الاجسام الصفر والشكل –5 يظهر هذه النتيجه ويعزى السبب في ذلك الى زيادة الهرمون LH عند المعامله بهذا التركيز ، اضافة الى ذلك فقد ادت المعامله بهذا التركيز الى زيادة نشاط المبيض وهذا يتضح في الشكل – 6– .

فضلا عن ذلك فان نبات النعناع يحتوي على الاحماض الدهنيه الطياره والتي تحفز افراز الهرمون محرض القند (GNRH) من خلال تاثيرها على تحت المهاد وبالتالي افراز هرمونات محفز الجريبات FSHوالهرمون التصفيري(LH) من الغده النخاميه (Boukhlq and martin , 1997) . اما سبب قلة الاجسم الصفر في مبايض الاناث المجرعه بالمستخلص المائي للنعناع في جميع التراكيز مقارنتآ بالسيطره ، قد يعود الى ان هذا النبات يعمل على تثبيط الجريبات المتطوره وصولا الى الجريبات الناضجه خلال فترة التجربه . ونعتقد بان التثبيط الحاصل(في المجموعتين الاولى والثانيه) في عدد واقطار الجريبات الاوليه والثانويه بالاضافه الى صغر حجم المبيض وتثبيط نشاطه ، قد يعزى الى احتواء النعناع على نسبه عاليه من L- carvone و مادة

من النعناع قد يكون لها تاثير ســـمي (Miller , 1998) .

PDR for herbal menthol) Menthol medicines , 1998) اذ يعتقد بان الجرع العاليه

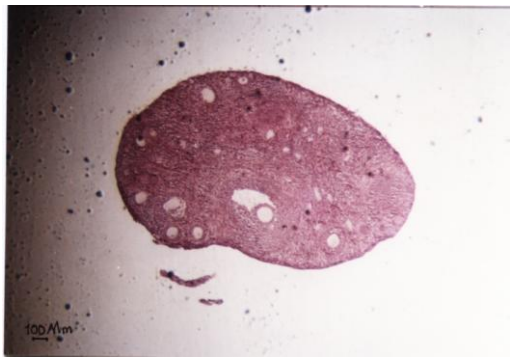
جدول رقم (1) يبين تأثير المستخلص المائي لنبات النعناع بالجرع المختلفة على مستويات كل من هرمون(FSH) و (LH) وEstradiol في مصل اناث الفئران البيض

اسم المجموعة	تركيز جرعة المستخلص %	FsH	LH	Estradiol
المجموعة الاولى	%21	0.53 ±0.26	1.07 ± 0.90 *	40.35 ± 6.28
المجموعة الثانية	%14	0.55 ± 0.13	1.77 ± 1.14 *	41.20± 1.26
المجموعة الثالثة	%7	1.37± 1.05 *	1.86 ± 1.56 *	63.33 ± 3.92 *
مجموعالرابعة(السيطرة)	ماء مقطر	0.53 ± 0.18	0.91 ± 0.25	30.07 ± 2.15

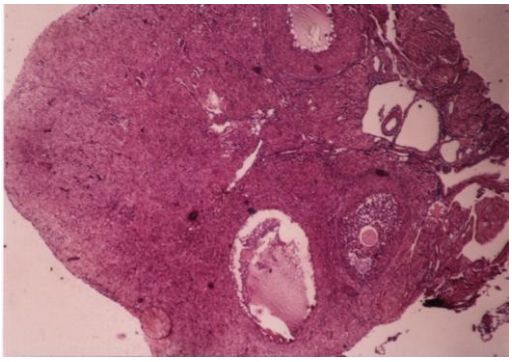
جدول (2) **معدل اعداد الجريبات المبيضة الابتدائية والثانوية ومعدل اعداد الجريبات الناضجة واقطارها ومعدل اعداد الاجسام الصغر واقطارها في مبايض الاناث المجرعة بالجرع المختلفة من المستخلص المائي لنبات النعناع**

اسم المجموعة	تركيز المستخلص	معدل عدد الجريبات الابتدائية ± SE	معدل قطر الجريبات الابتدائية ± SE	معدل عدد الجريبات الثانوية ±SE	معدل قطر الجريبات الثانوية ± SE	معدل عدد الاجسام الصفر ± SE	معدل قطر الاجسام الصفر ± SE
المجموعة لاولى	21 %	1.00 ±0.957	39.16 ± 12.88	1.000 ± 0.00	61.66 ± 10.79	1.000 ± 1.154	63.89 ± 31.81
المجموعة الثانية	14 %	2.7500 ± 0.957	117.50 ± 63.14	3.000 ± 0000	81.49 ± 10.30	2.2500 ± 0.500	122.80 ± 108.68
المجموعة الثالثة	7 %	6.000± 1.224	125.24 ± 32.06	4.600 ± 0.547	129.16 ± 33.17	2.4520 ± 0.957	129.87 ± 78.84
مجموعةالسيطرة	ماء مقطر	3.7500 ± 0.500	120.29 ± 37.52	2.000 ± 0.000	200.47 ± 82.40	7.7500 ± 0.957	90.88 ± 27.29
القيم تمثل المعدل ± SE الخطأ القياسي STANDARD ERROR							

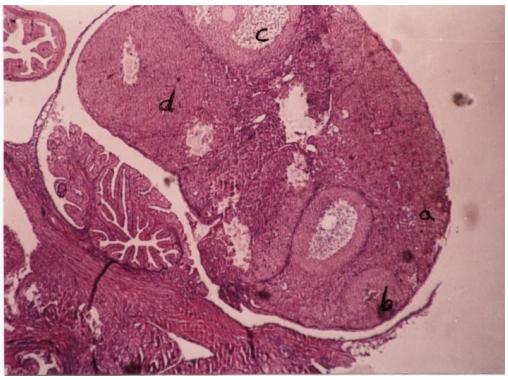
a – جريبة ابتدائية / b – جريبة ثانوية / c – جريبة ناضجة / d – جسم اصفر



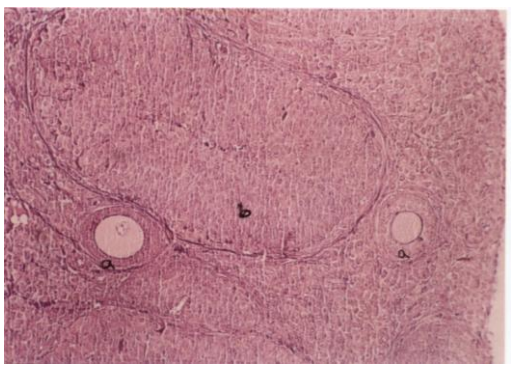
شكل رقم (1) مقطع في مبيض فارة من المجموعة الرابعة (السيطرة) يظهر فيه الحجم الاعتيادي للمبيض والشكل الجريبات المبيضية الطبيعي (X 40)



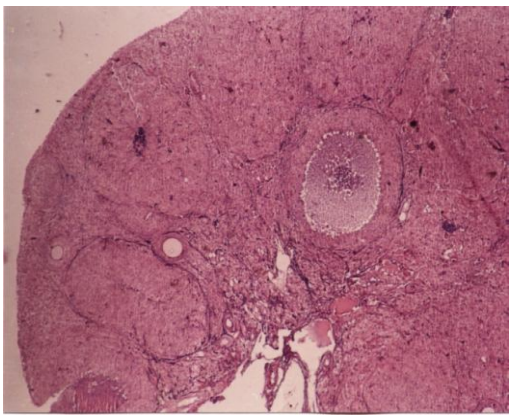
شكل رقم (3) مقطع في مبيض فأرة من المجموعة الاولى (21 %) نلاحظ فيه صغر حجم المبيض وقلة نشاطه (100 X)



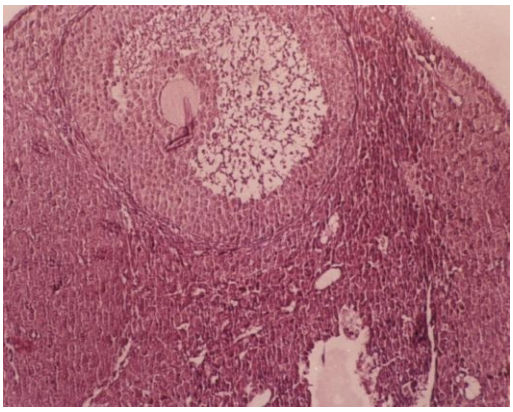
شكل رقم (2) مقطع في مبيض افأرة من المجموعة الثالثة (7 %) يظهر فيه نشاط المبيض وكبر حجمه وتتضح فيه الجريبات المبيضية في اطواره المختلفه .(X100)



شكل رقم (4) مقطع في مبيض فأرة من المجموعة الثالثة (7 %) نلاحظ فيه زيادة عدد الجريبات الابتدائية والثانوية والاجسام الصفر . a – جريبة ثانوية / b – جسم اصفر(X 400)



شكل رقم (5) مقطع في مبيض فأرة من المجموعة الثالثة (7 %) نلاحظ فيه الزيادة الكبيرة في عدد الأجسام الصفر . (X 400)



شكل رقم (6) مقطع في مبيض فأرة من المجموعة الثالثة (7 %) نلاحظ فيه الجريبة الناضجة والاجسام الصفر(400 X)

المصادر:

1. الزبيدي ، زهير نجيب وهدى عبد الكريم بابان وفارس كاظم فليح ، 1996 . دليل العلاج بالاعشاب الطبيه العراقيه ، الطبعه الاولى ، شركة اب للطباعه الفنيه المحدوده ، صفحه 8 – 111 .

2.Marcus , Donald , M . 2002 . Education about complementary and alternative medicine focus on Alternative and Complementary Therapies , Vol. 7(1), Pharmaceutical press , 1SSN 1465-3753 : 1-2. (Article) .

3. Shuman ,D.;Douglas, C.(2002) growers and producers of the pure essutial oils of peppermint, spearmint and Bergamot Mint (orange mint) (Article dshuman@MWT.net)

4. PDR for herbal medicines ,1998 . Medical economics Company .Inc., Montvale., pp.(695 -977) .

5. British Pharmacopoeia , 1993 . Spearmint oil , Oxytocin ., Vol.1, Her Majestys Stationery Office , London, UK., pp.(475 – 478,626).

6. رويحه ، امين . 1983 . التداوي بالاعشاب طريقة علميه تشمل الطب الحديث والقديم . الطبعه السابعه ، دار القلم ، بيروت لبنان. ص 21 – 361 .

7. Nair, B . 2001. Final report on the safety assessment of *menthe piperita* (Peppermint) oil , *Mentha piperita* (Peppermint) leaf extract , *Mentha piperita* (Peppermint) leaf , and leaf water . Int. J. toxicol., Vol. 20 (3) : 61-73 , Cosmetic Ingredient Review .

8. Reprotox Database : NOISE 2002 . the heart of herbalism : knowing the herbs Reproductive toxicology enter (Article at ttp:// reprotox . org).

9. Miller , J . 1998 . Main herb index (Herbs – MNO) . File :// A:/ Herbs – MNO. Htm. P. 1-9.

10. Potter, Sam'l , O., L. 1902 . Agents acting on the generative apparatus . potter Compend Materia Med .,P: 1-2 .

12. Matsumoto, T.; Tanaka, m.; Yamada , H . and Gyong , J. C . 1996 . Effect of licorice root oncarrageenan induced decrease in immune complexes clearance in mice . J. Ethnopharmacology soil and Health 60 : 15 -17 .

13. Sharma, N. and Jocob , D. 2001 . Antifertility investigation and toxicological screening of the petroleum ether extract of the leaves of menthe . arvensis L. in male albino mice .J. Ethnopharmacology , 75: 5 - 12 .

14. Vacca , L.L. 1985 . Laboratory manual of Histochemisry . Raven Press , New York . P. 563 .

15. Bancroft , J. and Stevens , A. 1982 . theory and practice of histological

17. Boukhliq , R. and martin , G.B. 1997 . Administration of fatty acids and gondotropin secretion in the mature rat . Anim reprod . sci -49 : 143 -159 .

technique . 2nd Ed. Churchill Livingston , London .

16. Duncan , D. B. 1955 . Multiple range and multiple F- teste , Biometrics . 11: 1-42 .

Effect of crude extract of menthaspicata on fertility in Albino female mice

Murad R. H .*

* Department of biology , college of sciences for women , university of Baghdad

Abstract :

The crude aqueous extract of *menthespicata* , the objective of this study was to investigate the effects of this extraction , on the histological changes of the ovares and levels of sex hormone , (FSH , LH , Estradiol) in albino female mice . the extract was given orally for(45) days . fourty mature female mice were used in this study , the animals divided into four major groups . each group was include ten mice . the first three groups was given different concentration)) (21 , 14 , 7 %) . While the fourth group considered as control group which had been administrated tab water .

For (45) days each group had been killed for hormonal assay in blood , and for histological study . The results showed that aqueous extract of *menthe spicata* , increased the significant value $p<0.05$, in the levels of (FSH, LH , Estradiol) hormones in the third group (7%) . While there was no significant effect $p> 0.05$ in both first and second group (21 ,14 %) .

The results of histological study for ovaries recorded asignificant increasing in the number of ovarian follicles in different stages , moreover the increasing on follicles diameters and in the size and activity of the ovaries . This result appeared clearly in the third group (7%) .

In the seam time the athere two groups (first , second) recorded reduced in the number and diameters of ovarian follicles and in the corpus luteum .

From the above mentioned outcomes we can conclude that the equeous extract of *menthe spicata* had a positive effect on the female reproductive systeme when it used in low concentration , while the high concentration had negative effect or toxcic effect .