Study of the pharmaceutical and antibiotic activity of *Myrtus communis*
Second: Effect of the hot aqueous extract of *Myrtus communis* on some histological parameters of adrenal gland and weights of some organs in female albino mice

دراسة الفاعلية الدوائية والتضادية لنبات الآس *Myrtus communis*
ثانيا: تأثير المستخلص المائي الحار لنبات الآس في بعض المعايير النسجية للغدة الكظرية وأوزان بعض الاعضاء في اناث الفئران البيض البالغة

رحاب غالب الزهيري ندى مهدي الخفاجي وسن نجم عبد السادة فداء هلال علي
قسم العلوم الأساسية /كلية طب الأسنان /جامعة بابل
هيام غانم كريم
كلية الصيدلة/جامعة بابل

الخلاصة

استخدم في الدراسة الحالية عشرة اناث من الفئران البيض البالغة تم حقنها بالمستخلص المائي الحار لنبات الآس داخل التجويف البريتوني بجرعة مقدارها 300 مايكروغرام / كغم من وزن الجسم لمدة عشرة ايام ،اما حيوانات السيطرة فقد حقنت بالمحلول الملحي الفسيولوجي وبنفس الطريقة تم بعدها التضحية بالحيوانات .

بينت المعاملة بالمستخلص المائي الحار لنبات الآس حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل سمك المنطقة الكبيبية والمنطقة الحزيمية ،بينما ظهر انخفاض معنوي ($P<0.05$) في معدل قطر لب الكظرية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ،ولم يلاحظ تأثير معنوي للمستخلص في معدل قطر الغدة بكاملها. كما سببت المعاملة بالمستخلص المائي الحار حصول فروقات معنوية واضحة في وزن بعض الاعضاء ،اذ حدثت زيادة معنوية ($P<0.05$) في وزن كل من الكبد والغدة الكظرية والكلية والمبيض ،بينما ظهر نقصان معنوي ($P<0.05$) في وزن الطحال والرحم , ولم يظهر تأثير معنوي للمستخلص في معدل طول الامعاء.

Abstract

Ten albino adult females of Balb/C strain mice were used in this study ,hot water extract of *Myrtus communis* was injected intraperitoneal with concentration 300 µg / kg body weight ,while control animal were injected with normal physiologic saline with same means.

Treatment with hot water extract of *Myrtus communis* revealed significant increase ($P<0.05$) in average thickness of zona glomerulosa and zona fasciculata, while revealed significant decrease ($P<0.05$) in average diameter of the adrenal medulla in comparison with control group. There was no a significant effect appeared in average diameter of adrenal gland. Treatment with hot water extract of *Myrtus communis* caused significant differences in some organs, there were significant increase ($P<0.05$) in weight for each of liver, adrenal gland, kidney and ovary, while revealed significant decrease ($P<0.05$) in weight of spleen and uterus .There was no a significant effect appeared in average length of intestines.

المقدمـــة

يعرف نبات الآس Myrtle علميا باسم *Myrtus communis* Linn. والذي ينتمي الى عائلة *Myrtaceae* ،وهو عبارة عن شجيرات صغيرة دائمة الخضرة تنمو في الاماكن الرطبة والظليلة وينتشر في منطقة البحر المتوسط ومناطق نظيرة اخرى من العالم كما يكثر في العراق. عُرف نبات الآس منذ القدم واستخدمت الاوراق والبذور والازهار والجذور اي كامل النبات فضلا عن زيته العطري في مجال الطب الشعبي، فقد استعمل مسحوق اوراق الآس في علاج الاسهال والتقرحات الداخلية كما استعمل كمادة مطهرة للجلد وخاصة للاطفال الرضع ،فضلا عن استخدام مزيج بعض الزيوت الاساسية المستخلصة من النبات في تحليل حصاة الكلية وتذويب كولسترول كيس الصفراء (15،16). وتشير بعض الدراسات الى امكانية استعمال نبات الآس في علاج مرض السكر غير المعتمد على الانسولين، فقد وجد ان اعطاء المستخلص المائي/ كحولي لنبات الآس يقلل مستوى الكلوكوز في دم الفئران المصابة بداء

السكر(12,4)، كما لوحظ نفس التأثير لدى الارانب التي تعاني من مرض السكر عند اعطاءها زيت اوراق الآس حيث تبين بان زيت الآس يعمل على تثبيط انزيم α-glucosidase الموجود في الامعاء الدقيقة مما يقلل من امتصاص الكلوكوز بالاضافة الى زيادة معدل تحلل السكر Glycolysis من خلال زيادة فعالية انزيم Glucokinase (14) .وقد وجد ان المستخلص المائي لنبات الآس له تأثير مضاد للطفرة الوراثية (7) ،كما اقترح استخدامه كدواء في علاج الامراض ذات العلاقة بالالتهاب والحساسية، اذ لوحظ ان مستخلص اوراق الآس له القابلية على كبح الاستجابة الخلوية في بداية الالتهاب (5) .

تقع الغدة الكظرية عند القطب العلوي للكلية وتتكون من اللب والقشرة والتي تفرز مجموعة من الهرمونات المختلفة من مختلف مناطق القشرة الثلاث وهي الستيرويدات القشرية وتفرز من الطبقة الشبكية والقشرانيات السكرية (الكورتيزول) وتفرز من الطبقة الحزيمية والقشرانيات المعدنية(الالدوستيرون) وتفرز من الطبقة الحبيبية في حين يفرز لب الكظرية الابنفرين والنورابنفرين استجابة للتنبيه الودي(6) .

نظرا لاستعمال الزيت العطري للاس في مجال الطب الشعبي بشكل واسع ، تم دراسة تاثير هذا المستخلص على اوزان ونسجية بعض الاعضاء عند حقنه في اللبائن .

1- المواد:

1-1 : الحيوانات :

استخدم في البحث عشر اناث من الفئران البيض السويسرية البالغة والتي تمت تربيتها في الاقفاص الايضية داخل غرفة ذات ظروف قياسية حيث تراوحت درجة الحرارة فيها ما بين (22-24) م° وفترة اضاءة 14 ساعة وتم اعطاءها حبيبات العلف pellet والماء حسب الاحتياج (8) . قسمت الحيوانات عشوائيا الى مجموعتين , مجموعة معاملة والتي حقنت داخل التجويف البريتوني Intraperitoneal بالجرعة 300 مايكروغرام / كغم على اساس وزن الجسم من المستخلص المائي الحار لنبات الآس لمدة عشرة ايام, ومجموعة سيطرة والتي حقنت بالمحلول الملحي الفسيولوجي وبنفس الطريقة . تم بعدها التضحية بالحيوانات واستئصال اعضاء الحيوان من الكبد والغدة الكظرية والكليتين والطحال والمبيض والرحم ووزنت بالميزان الحساس كما قيس طول الامعاء.

حفظت الغدد الكظرية بالمحلول المثبت (بوان) لحين تحضير المقاطع النسيجية وتم قياس المعايير النسيجية لها والتي تشمل قطر الغدة الكلي وسمك طبقة القشرة والطبقات المكونة لها وقطر منطقة اللب وذلك باستخدام المقياس العيني الدقيق بعد معايرته بالمقياس المسرحي.

2- طرائق العمل :

1-2 : تحضير المستخلص النباتي :

حضر المستخلص وفقا للطريقة المتبعة في (9) حيث استخدم 10غرام من مسحوق اوراق نبات الآس وتم تخفيفه في 100 مليلتر من الماء المقطر في درجة الغليان($100\ ^{\circ}C$) ثم يحقن في الحيوان بدرجة حرارة الغرفة.

2-2 : تحضير المقاطع النسجية

تم تحضير المقاطع النسجية وتصبيغها بالايوسين – هيماتوكسيلسن وحسب الطريقة المتبعة في (17).

3-2 : التحليل الاحصائي :

تم اختبار معنوية الفرق في النتائج بين مجموعتي السيطرة والمعاملة باستخدام اختبار t وبمستوى المعنوية ($P<0.05$) (13) .

النتائج والمناقشة

اولا : التغيرات النسجية

أوضحت النتائج في الجدول (1) حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل سمك المنطقة الكبيبية لكظر الحيوانات المحقونة بمستخلص الماء الحار لنبات الآس مقارنة مع مجموعة السيطرة. مما قد يشير ذلك الى حصول تضخم خلوي في المنطقة الكبيبية وبالتالي زيادة افراز هرمون الالدوستيرون نتيجة لزيادة تركيز أيونات البوتاسيوم في السائل خارج الخلايا وارتفاع فعالية نظام الرنين-انجيوتنسين (10).

كما لوحظ ايضا حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في معدل سمك المنطقة الحزيمية وارتفاع غير معنوي في معدل سمك المنطقة الشبكية للمجموعة المعاملة بنفس المستخلص عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة. وهذا يعني حصول تضخم في الخلايا الحزيمية والخلايا الشبكية وزيادة انتاج الكورتيزول الذي تفرزه تلك المنطقتين , وربما يعود ذلك الى تعرض الحيوانات الى الاجهاد Stress نتيجة المعاملة المستمرة بمستخلص الماء الحار لنبات الآس, فقد لاحظ الباحث (14) وجود كميات عالية من الكلايكوجين في نسيج الكبد للارانب المستحثة الاصابة بمرض السكر مختبريا والتي اعطيت زيت اوراق الآس عن طريق الفم بكمية مناسبة, وهو دليل على ارتفاع معدل تكوين الكلايكوجين Glycogenesis ، اذ من المعلوم ان اهم تأثير استقلابي للكورتيزول هو الزيادة الكبيرة في خزن الكلايكوجين في الكبد.

بينما اظهرت نتائج الدراسة الحالية حصول نقصان معنوي ($P<0.05$) في معدل قطر لب الكظرية عند حقن الحيوانات بمستخلص الماء الحار لنبات الآس مقارنةً مع مجموعة السيطرة, مما يدل على احتمالية انخفاض مستوى هرموني الابينفرين والنورابينفرين الذين يتم افرازهما من قبل لب الغدة الكظرية ,وبالتالي انخفاض سرعة الفعاليات الاستقلابية في الجسم ومنها تحلل

الكلايكوجين في الكبد والعضل وقلة تحرير الكلوكوز الى الدم (6) ، وهذا يتفق مع ما بينه(12,14) من حصول انخفاض واضح في تركيز الكلوكوز في الدم وارتفاع معدل تحلل السكر Glycolysis لدى الارانب المصابة بداء السكر وذلك بعد تجريع الحيوانات بزيت نبات الأس.

ولم يظهر تأثير معنوي لمستخلص نبات الآس في معدل قطر الغدة الكظرية بكاملها ,اذ يبدو من نتائج الدراسة التي تم الحصول عليها في هذا البحث ان الزيادة المعنوية في معدل سمك كل من المنطقة الكبيبية والمنطقة الحزيمية والنقصان الواضح في معدل قطر لب الكظر , كان بنسب متساوية تقريبا وبالتالي فان المحصلة النهائية لمعدل قطر الغدة الكلي كان ثابتا.

جدول (1) : تأثيرالمستخلص المائي الحار لنبات الآس في التركيب النسيجي للغدة الكظرية

قطر وسمك طبقات الكظرية (µm)	المحلول الملحي الفسيولوجي	المستخلص المائي الحار لنبات الآس 300 µg / kg	المحسوبة]قيمة
الغدة الكظرية (4x)	970±97	1255±326.4	1.06
القشرة (10x)	339±126.5	274±81.88	0.86
المنطقة الكبيبية (40x)	35.75± 7.36	* 90 ± 25.5	4.08
المنطقة الحزيمية (40x)	76.5±14.3	*137.5 ± 27.4	3.95
المنطقة الشبكية (40x)	68±20.3	104±26	2.18
اللب (10x)	525±29.7	* 298 ± 69.4	2.89

تمثل القيم المعدل ± الانحراف المعياري
* ($P<0.05$) فرق معنوي عن مجموعة السيطرة
قيمة t الجدولية = 2.306

ثانيا : التغيرات في وزن بعض الاعضاء

تشير النتائج في الجدول (2) الى حدوث زيادة معنوية ($P<0.05$) في وزن الكبد والغدة الكظرية والكلية والمبيض في اناث الفئران المحقونة بمستخلص الماء الحار لنبات الآس بالمقارنة مع مجموعة السيطرة, بالنسبة الى الزيادة في وزن الكبد فربما تعود الى زيادة محتوى نسيج الكبد من الكلايكوجين (2) وهذا يؤيد ما ذكر اعلاه من حصول زيادة في عملية تكوين الكلايكوجين نتيجة لارتفاع مستوى الكورتزول .

وقد يعزى سبب الزيادة في وزن الكبد والغدة الكظرية والكلية والمبيض الىالزيادة المحتملة في افراز هرمون الالدوستيرون الذي يجعل الكليتين تمتص كميات اكبر من الماء والصوديوم , ومن المحتمل ايضا ان تكون المركبات الفعالة الموجودة في مستخلص نبات الآس (11) قد عملت على تحفيز الفص الخلفي للغدة النخامية لافراز الهرمون المضاد للابالة ADH ,اذ من المعلوم ان افراز هذا الهرمون يمكن ان يزداد او ينقص بفعل منبهات للجهاز العصبي المركزي كالعقاقير, لذلك قد تؤدي الزيادة المحتملة للهرمون المضاد للابالة الى تقليل كمية البول واحتباس السوائل داخل الجسم من خلال اعادة امتصاص الماء في النبيبات الكلوية بكمية اكبر مؤدية بذلك الى زيادة الوزن، فضلا عن حدوث الوذمة Edema وارتشاح السوائل في تلك الاعضاء مما يسبب حصول ارتفاع واضح في الوزن). 6)

اظهرت النتائج في الجدول (2) حصول نقصان معنوي ($P<0.05$) في وزن الطحال ،بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. مما يشير الى قلة اعداد الخلايا اللمفية التي تعد احد المكونات الرئيسة في التركيب النسجي للطحال ،وقد لوحظ في احدى الدراسات ان حقن الفئران بالمستخلص المائي الحار لنبات الآس يسبب انخفاض معنوي في اعداد الخلايا اللمفية في الدم (1)، ولما كانت النتائج التي تم التوصل اليها في هذا البحث تبين حصول زيادة في نشاط الخلايا الحزيمية للغدة الكظرية والمسؤولة عن افراز الكورتيزول، ومن المعروف ايضا بان قلة اعداد الخلايا اللمفية هي دليل تشخيصي مهم على فرط افراز الكورتيزول حيث ان الورم الصغير في خلايا المنطقة الكبيبية التي تفرز كميات كبيرة من الالدوستيرون وفي القليل من الحالات تفرز قشور الكظريات مفرطة التنسج الالدوستيرون

بدلا من الكورتيزول وبتاثير الهرمون المحفز لقشرة الكظرية (ACTH)(6). لذلك ربما يكون اختزال اعداد الخلايا اللمفية بسبب زيادة افراز كورتيزول الكظر قد ادى الى ضمور واضح في الطحال وبالتالي انخفاض وزنه بشكل معنوي.

كما وقد بينت النتائج في الجدول (2) انخفاض وزن الرحم بشكل معنوي ($P<0.05$) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. وربما يعود السبب الى تحطم البطانة الداخلية للرحم بسبب المعاملة المستمرة بالمستخلص. فقد لاحظ (3) ان اعطاء زيت نبات الآس بمقدار 10 قطرات في اليوم يسبب تهيج وحدوث نزف في الغشاء المخاطي للرحم وبالتالي اجهاض الحمل الناتج عن التاثير التراكمي السمي للمحتوى الكيميائي لمستخلص نبات الاس ومن جملة هذه المكونات Myrtenel acetate,Linaly acetate,linalool,1,8-cinol وغيرها العديد من المكونات الكيميائية السامة.

ولم يُظهر التحليل الاحصائي اي تأثير معنوي للمستخلص المائي الحار لنبات الآس في طول الامعاء ،مما يشير الى ان وظيفة الامعاء ربما كانت تجري بمعدلات طبيعية خلال فترة المعاملة بالمستخلص. وبالرغم من ذلك فقد لوحظ وجود نقصان غير معنوي في طول الامعاء، وقد يفسر ذلك نتيجة الفعل القابض لمستخلص نبات الآس (15 , 16).

نستنتج من ذلك ان مستخلص الماء الحار لنبات الآس له تاثيرات متفاوتة في خلايا المناطق المختلفة للغدة الكظرية فهو محفز في كل من المنطقة الكبيبية والحزيمية وبنسبة اقل في المنطقة الشبكية ومثبط في منطقة اللب. كما اظهرت الاعضاء المشمولة بالدراسة الحالية استجابات مختلفة الى المستخلص فقد زاد وزن بعضها وقل وزن البعض الاخر، ويبدو ان هناك تأثير سلبي للمستخلص في بعض الاعضاء ضمن التركيز 300 µg/kg ولا سيما الطحال والرحم وبالنسبة للزيادة الحاصلة في وزن المبيض فربما يرجع السبب الى ارتشاح السوائل بسبب الزيادة المحتملة في مستوى هرمون الالدوستيرون(6,11). لذلك نوصي باجراء دراسة نسيجية لتلك الاعضاء لغرض ايضاح تأثير الجرعة المستخدمة فربما تكون ضارة. كما نوصي باجراء دراسة مماثلة يتم فيها قياس مستويات هرمونات الالدوستيرون والكورتيزول وACTH والابينفرين والنورابينفرين فضلا عن الهرمون المضاد للابالة. وقياس مستوى الكلوكوز في الدم بهدف تعزيز نتائج الدراسة الحالية.

جدول (2) : تأثيرالمستخلص المائي الحار لنبات الآس في وزن بعض الاعضاء وطول الامعاء

وزن الاعضاء (gm)	المحلول الملحي الفسيولوجي	المستخلص المائي الحار لنبات الآس 300 µg / kg	قيمة t المحسوبة
الكبد	1.1361±0.0689	* 1.2898 ± 0.2087	5.45
الطحال	0.1656±0.0604	* 0.133± 0.062	2.745
الغدة الكظرية	0.0048±0.0013	* 0.0052 ± 0.00007	1.398
الكلية	0.1339±0.0112	* 0.1358 ± 0.0138	0.397
المبيض	0.0055±0.0007	* 0.0086 ± 0.0022	0.144
الرحم	0.1266±0.0189	* 0.0706 ± 0.0079	0.75
طول الامعاء (cm)	54.52± 4.23	45.66 ± 3.87	5.872

تمثل القيم المعدل ± الانحراف المعياري
* ($P<0.05$) فرق معنوي عن مجموعة السيطرة
قيمة t الجدولية = 3.089

References

1- الذهب، أزهار عمران لطيف والزهيري، رحاب غالب محمد وعبد المجيد، خلود (2001). دراسة الفاعلية الدوائية والتضادية لنبات الآس *Myrtus communis* أولا: تاثيرالمستخلص المائي الحار لنبات الآس في النمو البكتيري ومعايير الدم الفيزياوية في اناث الفئران البيض. مجلة التقني / البحوث التقنية، 92:25-32.

2-Aiston, S.; Trinh, K. Y.; Lange, A. J.; Newgard, C. B.; Agius, L. (1999). Glucose-6-phosphate over expression lowers glucose-6-phosphate and inhibits glycogen synthesis and glycolysis in hepatocytes without affecting glucokinase translocation. The J. Biological Chemistry, 274:559-566.

3-Baytop, T. (1999). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi (Therapy with medicinal plants in Turkey, past and present), second edn., Nobel Tip Kitapevi, Istanbul.

4-Elfellah, M. S.; Akhtar, M. H.; Khan, M. T. (1984). The antidiabetic effect of the ethanol-water extracts of *Myrtus communis* using streptozotocin induced Hyperglycaemia mice. J. Ethnopharmacology, 11:275-281.

5-Feisst, C.; Franke, L.; Appendino, G.; Werz, O. (2005).Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from *Myrtus communis* L., and their implication as anti-inflammatory compounds. J. Pharmacol. Exp. Ther. 315(1):389-396.

6-Guyton, A. C. & Hall, J. E. (1996). Textbook of medical physiology, 9th edn., W. B. Saunders Company, Philadelphia.

7-Hayder, N.; Kilani, S.; Abdelwahed, A.; Mahmoud, A.; Meftahi, K.; Ben Chibani, J.; Ghedira, K.; Chekir-Ghedira, L. (2003). Antimutagenic activity of aqueous extracts and essential oil isolated from *Myrtus communis* L. Pharmazie. 58(7):523-524.

8-Hafez, E. S. E. (1970). Reproduction and breeding technique for laboratory animals. Lea & Febiger Philadelphia. U.S.A.

9-Harborne, J. B. (1984). Photochemical studies a guide to modern techniques of plants analysis. 2nd edn., London, New York, Chapman and Hall.

10-Laragh, J. H. & Sealey, J. E. (1992). Renin-angiotensin-aldosterone system and the renal regulation of sodium, potassium and blood pressure homeostasis. In Windhager, E. E. (ed.). Handbook of physiology, section 8, renal physiology, vol.II. New York, Oxford university press.

11-Ozek, T.; Demirci, B.; Baser, K. H. C. (2000). Chemical composition of Turkish myrtle oil. J. Essen. oil Res.12:541-544.

12-Onal, S.; Timur, S.; Okutucu, B.; Zihnioglu, F. (2000). Type-2 diabetes and _-glucosidase inhibitors. In: The Proceedings of the First National Symposium on Biochemistry, Kusadasi, Turkey, P. III.

13-Scheffer, W. L.(1969).Statistics for the biological sciences.2nd ed. Addition Westery publishing company California. London. Amesterdam.

14-Sepici, A.; Gürbüz, I.; Cevik,C. & Yesilada, E. (2000). Hypoglycaemic effects of myrtle oil in normal and alloxan-diabetic rabbits. J. Ethnopharmacology, 93:311-318.

15-Twaij, H. A. A.; Hanifa, M. & Al-Zohyri, A. M. (1988a). Pharmacological, Phytochemical and antimicrobial studies on *Myrtus communis*. Part 1. J. Biol. Sci. Res. 19(1):29-39.

16-Twaij, H. A. A.; Hanifa, M. & Al-Zohyri, A. M. (1988b). Pharmacological, Phytochemical and antimicrobial studies on *Myrtus communis*. Part 2. J. Biol. Sci. Res. 19(11):41-52.

17- Persnell ,J.K.&Screibman,M.P.(1997).Humason'sanimal tissue techniques,5th edn., Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore.