دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات النعناع *Spearmint plant* على نمو وتطور الجريبات المبيضية في الفئران البيض البالغة

م.م.هدف هاشم محمد الموسوي*

*قسم علوم الحياة . كلية العلوم . جامعة بغداد.

الملخص :

استهدفت الدراسة معرفة تاثير المستخلص المائي والكحولي لنبات النعناع ودراسة تاثيرهما في التركيب النسيجي للمبيض وعدد الجريبات المبيضية في اناث الفئران البيضاء . حيث استخدمت في هذه التجربة 36 فارة بيضاء بالغة وبعمر 2–3 اشهر وتم تقسيم هذه الاناث الى ثلاث مجاميع رئيسية ، المجموعة الاولى وهي مجموعة السيطرة G1 وقد جرعت بالماء المقطر الخالي من اي نوع من المستخلصات والمجموعة الثانية G2 التي جرعت بالمستخلص المائي وبتركيز (10gm/ml) ، اما المجموعة الثالثة G3 فقد جرعت بالمستخلص الكحولي وبنفس التركيز،واستمر التجريع عن طريق الفم لمدة ستة اسابيع . اظهرت النتائج ان تجريع مستخلصي نبات النعناع يؤدي الى انخفاض معنوي في وزن الجسم وفي وزن المبايض وضمورها وكذلك وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$)في عدد الجريبات المبيضية المتطورة وفي جميع مراحلها الابتدائية والثانوية وصولا الى الجريبات الناضجة عند مقارنتها مع اناث مجموعة السيطرة . حيث يتضح من نتائج الدراسة الحالية ان لنبات النعناع تاثير تثبيطي على الجهاز التناسلي الانثوي وبالتالي يؤثر سلبا على نسب الاخصاب .

المقدمة

النعناع نبات معروف ذو اوراق بيضوية مرتبة على ساق النبتة بشكل ازواج متصالبة والنبات له اوراق خضراء زاهية وازهار ارجوانية صغيرة (1) . يتوطن النعناع في اوروبا وهو واسع الانتشار في مناطق مختلفة من العالم ويعتبر واحد من نباتات الحدائق الاكثر شعبية

والمتعدد الاستعمالات في المنزل ويتواجد في كافة انحاء العراق(2) . يحتوي النعناع على العديد من المواد اهمها الزيوت الطيارة volatile oil وعلى مركب الكارفون carvone وعلى الفلافونويدات flavonoids ومن بينها الثايمونين thymonin وايضا مشتقات حامض الكافئك cafeic acid derivatives والحاوي بينها حامض الروزمارنك rosmarinic acid في الزيت الطيار (3) . وهو غني بالفيتامينات وخاصة فيتامين A,B complex وذو محتوى عالي من الكالسيوم والمغنيسيوم ,الكبريت , البوتاسيوم,الصوديوم والحديد وكذلك حامض التانك tannic acid (4) كما تحتل التربينات الاحادية المكونات الرئيسة في الزيت الطيار لجميع اجناس النعناع .

ان للنعناع تاثيرات مضادة للمغص antispasmodic طارد للغازات carminative وهو ينشط عملية الهضم ويخفف الغثيان , ويقلل من اضطرابات المعدة ولكن المستخلص المركز للنعناع يكون مقيء وتشير بعض البحوث الى امكانية استخدامه لمعالجة الاسهال والتهاب الجلد والتشنجات والالام العضلية وكذلك لمعالجة الربو والتهاب القصبات والتهاب الجيوب الانفية والانفلونزا وهو مضاد للفطريات ويحمي من اصابات نخاع العظم والمعدة والامعاء الناتجة من التعرض للاشعاع (5). ليست هناك مخاطر صحية معروفةللنعناع اذا اخذ بكميات معتدلة لكن بعض البحوث والدراسات العلمية اثبتت ان لبعض النباتات الطبية ومنها النعناع لها تاثيرات ضارة على الجهاز التناسلي وبالتالي فانها تؤثر على خصوبة الذكور والاناث على حد سواء (6) فينصح بالتخفيف من استعمالها غير المحدود لذلك فان الغرض من هذه الدراسة هو تقصي الاثار الناتجة عن تناول هذا النبات وبالتالي تقييم تاثيره على الخصوبة الجنسية .

المواد وطرائق العمل :

1- المادة النباتية :

تم تشخيص النبات بصورة دقيقة وجمعت الاوراق الطرية لنبات النعناع Spearmint ونشرت الاوراق على صفيحة خشبية مغطاة بقطعة من القماش في مكان ظليل لمدة اسبوعين مع مراعاة التقليب المستمر للاوراق منعا لحدوث التعفن (7) تم

طحن الاوراق الجافة الى مسحوق دقيق وحفظ في اكياس ورقية وتم تشخيص النبات المستخدم في هذه التجربة حيث حدد جنس ونوع النبات بما يلي : *Mentha spicata(Linn)*Spearmint . استخدم الماء المقطر كمذيب للمستخلص المائي والكحول الاثيلي كمذيب للمستخلص الكحولي ،حيث وزن 10 غم من مسحوق المادة النباتية في وعاء زجاجي وتم تنقيع المسحوق باضافة 100مل من الماء المقطر بالنسبة الى المستخلص المائي وبالكحول الاثيلي للمستخلص الكحولي واستمرت مدة التنقيع من 30 الى 60 دقيقة مع الرج المستمر ثم رشح المستخلصان بوساطة ورق الترشيح للحصول على مستخلص نقي خالي من الشوائب وتم حفظ المستخلصان في اوعية زجاجية محكمة الاغلاق وبعيدا عن الضوء لحين الاستخدام .

2- حيوانات التجربة:

استخدم في هذه التجربة 36 فارة بيضاء مختبرية من نوع Swiss adult female albino mice وباعمار تتراوح بين 2-3 اشهر وتتراوح اوزانها بين 19-20 غم ووضعت تحت ضروف بيئية ثلبتة وغذيت على العليقة الخاصة وقسمت الحيوانات الى ثلاث مجموعات رئيسية.المجموعة الاولى وهي مجموعة السيطرة G1 (12فارة) تم تجريعها بالماء المقطر الخالي من مستخلصي النبات المائي والكحولي ،والمجموعة الثانية G2 (12فارة) وهي المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي بتركيز 100gm/ml ،والمجموعة الثالثة G3 (12فارة) جرعت بالمستخلص الكحولي وبنفس التركيز .اعطيت الجرعات عن طريق الفم باستخدام انبوب المعدة stomach tube ثلاث مرات اسبوعيا سواء للمستخلص المائي او المستخلص الكحولي خلال فترة استمرت ستة اسابيع وفي اليوم التالي لاخر جرعة تم قتل الحيوانات وذلك لغرض اجراء تالدراسة النسيجية ومتابعة التاثيرات الناتجة من تناول مستخلصي النبات على المبيض .

3- جمع العينات:

بعد انتهاء فترة التجريع تم قتل الحيوانات باستخدام طريقة الخلع العنقي cervical dislocation (8) بعدها تفتح منطقة البطن وتستخرج المبايض وتفصل الانسجة الدهنية والرابطة المتصلة بها وتجفف قليلا باستخدام ورق الترشيح ثم توضع في المثبت bouin

solution وذلك تمهيدا لعمل المقاطع النسيجية لها ويفضل استعمال هذا المثبت في تثبيت الانسجة الرقيقة ومنها المبايض (9)ووضعت العينات في المثبت لمدة 24 ساعة ثم نقلت الى كحول اثيلي بتركيز 50% لمدة 1–2 ساعة ثم الى تركيز 70% للتاكد من ازالة اللون الاصفر للمثبت واستخدمت صبغة الهيماتوكسيلين ايوسين في صبغ المقاطع لهذه التجربة .

4– القياسات الشكلية والحيوية :

اعتمدت في هذه الدراسة مؤشرات حيوية biological parameters مختلفة لمعرفة التاثيرات الحاصلة من تجريع كل من المستخاص المائي والكحولي لنبات النعناع ومنها تعيين وزن الجسم جيث تم وزن حيوانات التجربة قبل التجريع ثم بعد انتهاء فترة التجريع التي استمرت ستة اسابيع كذلك تم حساب عدد الجريبات المبيضية الابتدائية والثانوية وجريبات كراف الناضجة ومقارنتها مع مجموعة حيوانات السيطرة وقد استخدم مجهر من نوع olympusBM2 لفحص الشرائح النسيجية .

5– التحليل الاحصائي:

حللت النتائج احصائيا وفق ماجاء في دونكان وجماعته (10).

النتائج والمناقشة :

1– وزن الجسم :

اظهرت النتائج ان المستخلص المائي والكحولي لنبات النعناع يؤثر تاثيرا سلبيا واضحا على وزن الجسم وظهر الانخفاض في وزن الجسم بفرق معنوي ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة التي ازداد فيها وزن الجسم زيادة واضحة وذلك في الاسابيع الثلاثة الاولى من التجربة، وبدات اعراض فقدان الوزن بالظهور بصورة واضحة عند نهاية الاسبوع الثالث وبداية الاسبوع الرابع وخاصة في الاسبوع الاخير من التجريع مما ادى الى وجود فرق كبير في الوزن مقارنة بمجموعة السيطرة (الشكل 6) حيث كان وزن الفارات في بداية الثجربة يتراوح بين 19–20 غرام وعندما تم وزنها في الاسبوع الثالث اي في منتصف فترة التجريع كان الوزن في مجموعة G1(21.5غرام) اما في الاسبوع الاخير فكان (24غرام) ومجموعة G2 (18.7غرام) انخفض الى (17.2غرام)في الاسبوع الاخير اما بالنسبة الى مجموعة G3 فكانت في المنتصف (

18.4غرام) انخفضت الى (18غرام) وظهر الانخفاض اكثر وضوحا في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي ،كذلك ظهرت اعراض مرضية مصاحبة للانخفاض في الوزن وقد يعزى سبب هذا الانخفاض الى احتواء نبات النعناع على كمية من الزيوت الطيارة وكذلك على المركبات الفينولية والثايمونين حيث تسبب هذه المركبات فقدان الشهية والهزال (11) وقد تؤثر على عملية تمثيل وبناء الاحماض الامينية مما يؤثر على عملية بناء وصنع البروتين وبالتالي يؤدي الى الانخفاض في وزن الجسم (12) . فضلا عن ذلك فان هناك انخفاض وضمور في المبايض للاناث التي جرعت بالمستخلص النباتي وهذا قد يعزى الى حدوث الاضطرابات الهرمونية حيث تسبب هذه الاضطرابات عدم تحفيز خلايا الطبقة الحبيبة granulose cell في المبيض لافراز هرمون البروجستيرون وهذا بدوره يؤدي الى عدم نمو وتكاثر هذه الخلايا والعدم حدوث التغذية الاسترجاعية الموجبة وبذلك لايحدث نمو وتطور في المبايض (13).

2- التغيرات النسيجية:

ظهر من الفحص المجهري لمبايض الفارات المجرعة بالمستخلص المائي والكحولي بانها قد عانت تاثيرا واضحا شمل حجمها العام وكذلك انخفاض واضح في معدل عدد الحريبات المبيضية الناضجة والجريبات المبيضية الثانوية والابتدائية للمجاميع المجرعة عند مقار نتها مع مجموعة السيطرة فلقد لوحظ ان الجريبات الطبيعية تقل في العدد بينما تزداد الجريبات المرتوقة ، كذلك لوحظ تحلل خلية البيضة والنطاق الشفاف والتاج المشع فضلا عن التنكس الخلوي الذي ظهر في الطبقة الحبيبية وترشحها بخلايا الدم الحمراء والخلايا الالتهابية الاخرى (شكل -1) مقارنة مع الجريبات المبيضية الى مجموعة حيوانات السيطرة (شكل -2) والتي تظهر فيها الجريبات المبيضية الناضجة كذلك وجد ان الاجسام الصفراء تعاني من تغيرات مختلفة في تركيبها النسيجي وظهر التنكس الخلوي واضحا في الطبقة الحبيبية اللوتينية (شكل-3)بالاضافة الى وجود الجريبات الناضجة المتحللة حيث ظهرت متحللة تحللا كاملا مع اختفاء النطاق الشفاف وتفكك التاج المشع وترشح هذه الجريبات بالخلايا الدموية (شكل 4) .اما عند حساب

اعداد الجريبات المتطورة وجد بان هناك انخفاض معنوي (p<o.o5) في اعدادها مقارنة مع مجموعة السيطرة (شكل 5) حيث يلاحظ ان معدل عدد الجريبات الابتدائية في اول مجموعة , مجموعة السيطرة G1 (0.3±1.4) انخفض الى (3.6±0.2) في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي G2 والى (8.3±0.3) في الفارات المجرعة بالمستخلص الكحولي G3 ،اما بالنسبة الى الجريبات الثانوية فكان معدل عددها في مجموعة السيطرة G1 (8.8±0.2) وفي المجموعة المجرعة بالمستخلص المائي G2 (5.4±0.2) والمجموعة التي جرعت بالمستخلص الكحولي G3(5.7±0.2) .وكان معدل عدد الجريبات الناضجة في مجموعة السيطرة G1(4.9±0.1) وفي مجموعة المستخلص المائي

G2(2.2±0.1) ، وفي مجموعة

(3.6±0.1)في المجموعة التي جرعت بالمستخلص المائي G2 والى (0.3+0.2)في الفارات المجرعة بالمستخلص الكحولي، اما بالنسبة الى الجريبات الثانوية فكان معدل عددها في G1 (0.8±2.8) وفي مجموعة G2 (0.7±1.2) اما المجموعة الثالثة G3 فكانت (0.5±1) ، وكان معدل عدد الجريبلت الناضجة في G1 (0.4±1.9) وفي مجموعة G2 (1.2±0.2) اما المجموعة الثالثة للمستخلصالكحولي G3 فكانت (2.3±0.3) .ومن هنا يتضح بان اعطاء مستخلصات بعض الاعشاب

ومنها النعناع تؤثر على الخصوبة حيث وجد من خلال دراسة المقاطع النسجية ازدياد عدد الجريبات المرتوقة والصغيرة الحجم في حين ينخفض عدد الجريبات المبيضية الطبيعية، فضلا عن وجود الجريبات المتكيسة وقلة الخلايا البينية الغدية مع انخفاض في عدد الاجسام الصفر في مبايض الاناث المعاملة (14) وقد يعزى سبب الانخفاض الى ن استخدام الاعشاب الحاوية على الهرمونات النباتية يؤدي الى انخفاض عدد الجريبات المبيضية وكذلك يؤثر على الخصوبة والحمل حيث ذكر عدد من الباحثين انه في منطقة الاتصال بين البويضة والخلايا الحبيبية توجد انواع من البروتينات وان الاضطرابات الهرمونية الناتجة عن تجريع المستخلص النباتي تؤدي الى حدوث نقص في بناء وتكوين هذه البروتينات مما يؤدي الى حدوث فشل في

الاباضة من جهة وعدم تطور العديد من الجريبات المبيضية من جهة اخرى (15) . كذلك فان مركبات الفلافونيدات تمتلك فعالية هرمونية وان بامكانها التنافس مع الهرمون للارتباط بالمستقبلات او الانزيمات (16)وتلعب الهرمونات دورا مهما في وظيفة المبيض بالرغم من ان المبيض هو مصدر انتاجها ويعتمد تكوين الاستروجينات ونضج الجريبات على التداخلات المعقدة بين الهرمونات المحفزة للاقناد وبين خلايا القراب والخلايا الحبيبية للجريبات الناضجة (17)وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية حيث ظهر التاثير واضحا على معدل تطور الجريبات المبيضية بحيث لايصل العدد الكافي منها الى مرحلة الجريبة الناضجة المسؤلة عن اطلاق الهرمونات الجنسية وقد ذكر (18) ان اي تداخل

في عملية التطور الجر يبي يؤدي الى تاخير وقت الاباضة وبالتالي يؤدي الى زيادة الوقت اللازم لتطور هذه الجريبات ووصولها الى الجريبة الناضجة ،ومن الملاحظ من خلال هذه الدراسة ان اي مادة طبيعية او صناعية تؤثر على التطور الجريبي الطبيعي يمكن ان تؤدي الى حدوث انخفاض الخصوبة وان التطور الجريبي في المراة يكون اكثر حساسية لان اليات اعادة التجديد تكون ابطا (19) مما يؤدي الى اعتبار المادة التي تؤخر التطور الجريبي سواء كان تاخيرا في التمايز الخلوي او زيادة في الرتق الجريبي سيكون تاثيرها سلبيا وطويل الامد على خصوبة المراة .

Refernces:

1. PDR for herbal medicine(**1998**).Medical economics company.Inc;Montvale;pp.(695-977).

2. British pharmacopia (**1988**).Chamomile flowers ;Vol.1,Her majesty stationary office ,London,UK;pp.(114,129,403).

3. British pharmacopoeia (**1993**).Spearmint oil,oxytocin;Vol.1, Her majesty stationary office,London,UK;pp.(475-478,626).

4. Reprotox Database:Noise(**2002**) .The heart of herbalism:Knowing the herbs,Reproductive toxicology center.(Article at http://reprotox.org.).

5. 5.Jagetia,G;C;Baliga,M;S.(**2002**).Influence of the leaf extract of *Mentha arvensis* linn.(Mint)on the survival of mice exposed to different doses of Gamma radiation .Strahlentherapie and onkologie,Ab;Vol.178(2):91-98.(Article in PDFformat126KB).http://athene.em.springer.de/cgi/view-hd.pl.

6. Peris,A.(**2001**)Female life factors,procare pharmacy electronic media retrived on 10 oct.2002.from www.fertil text.org/101.

7. AL-Asady,R.A.(**1996**).The activity of some plant extract against pediculus humanus parasitological and clinical implications on pediculosis capitis.M.sc.thesis ,coll.Med.Univ.Baghdad :127pp.
8. 8. Rafferty,A,K,J,R.(**1970**).Methods in experimental embryology of the mouse;1st edition,Jhons Hopkins press;Baltimore,London;pp(36-37).

9. Bray ,John;Patricia,A;Gragg ;Authony ,D,C;Macknight ;Roland ,G;Milles;Douglass ,w;Taylor (**1989**).Lecture notes on human physiology;2nd edition ,Blackwell scientific publications LTD;pp.(114-122).

10. Duncan,R.C;Knapp,R.G.and Miller,M.C,(**1983**) Introdutory Biostastics of th health science,Awileg medical publications ,Jhon wiley and sons,London.pp.161-179.

11. Guseinov.D.Y.(**1987**).Studies on the chemical composition and some aspects of the pharmacological action of the essential oil .farmakol.Toksicol.50:73-74.

12. 12.Waller,D.Pandwang,Y.(**1998).**Theobromin toxicity ,Sertoli and leydige cell comparative with coca extract in rats.Toxicol,70(2):64-155.

13. AL-Bakari ,A,M; Shah.A,H;Qureshi,S.(**1990**).Effect of allium sativum on epidydimal spermatozoa estradiol treatment mice and general toxicity.j.Ethnopharmacol 27(2): 25-117.

14. .Mikolic,Z;Blagojevic,Z;Mrvic,v.Iva nove,(**1999**).Effect of neonatal oestrogen and HCG treatment on the genital organs of adult female rats.Acta veterinaria Hungarica.47(1):109-115.

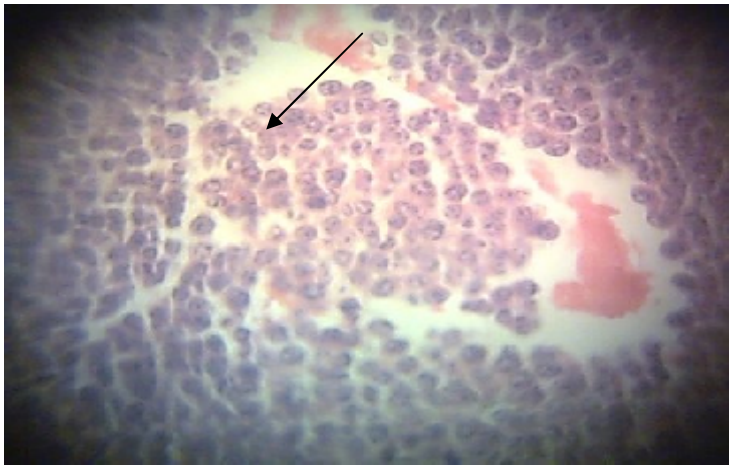
15. Simon,A.Mand,d.a.(**1997**).Female infertility in mice lacking connexin

16. 37,Nature.358(6616):525-529. Danilovich,N.Javeshghani,D;Xing,W.and Sairam,M.R.(**2002**).Endocrine alternation and signaling changes associated with declining ovarian function and advanced biological in follicle – stimulating hormone receptor haploinsufficient mice .Biol.Reprod.67 (2):370-387.

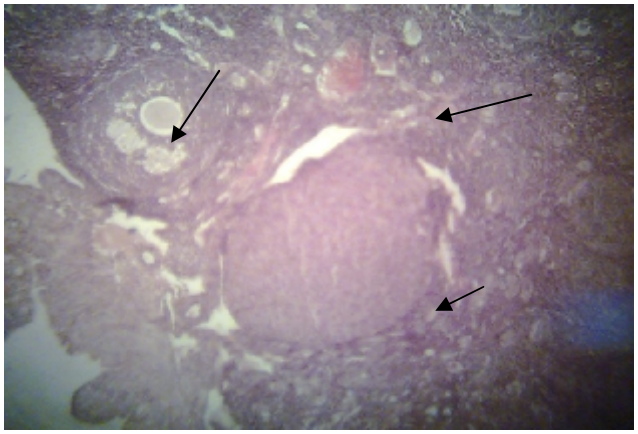
17. Ontani,T.Sasamoto,S.(**1982**)Plasma and pituitary hormone changes and follicular development after unilateral ovarictomy in cyclic rats.J.Reprod.Fertil.65:347-353.

18. Parakash,O.A.(**1981**).Effect of artobotrys odoratissiums extract on rat uterine glycogen , protein and non protein nitrogen,Planta medica,pp:54-67.

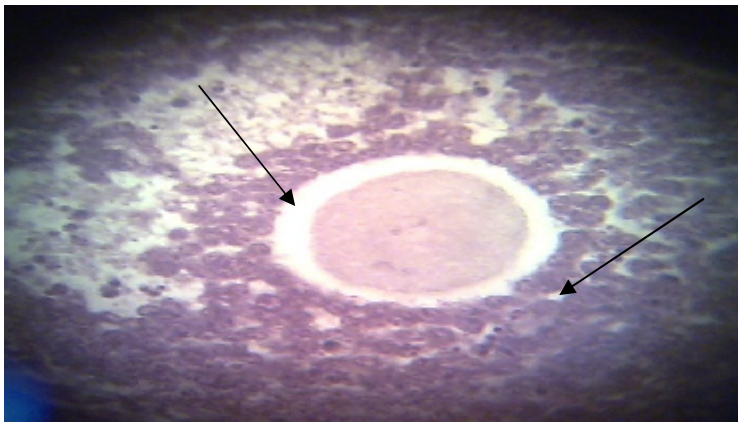
19. Hirshfield,A.N.(**1987**).Histological assessment of follicular development and its applicability to risk assessment .Reproductive toxicol.1:71-79.



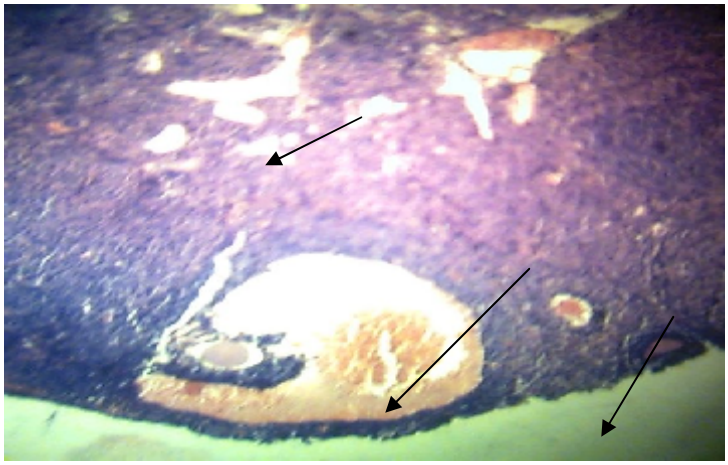
الشكل (1) مقطع في مبيض فارة مجرعة بالمستخلص المائي لنبات النعناع ويمثل G2 يظهر فيه الجريبات المبيضية المرتوقة وخلية البيضة المتحللة وتحلل النطاق الشفاف . السهم (صبغة هيماتوكسيلين–ايوسين).قوة تكبير 40x .



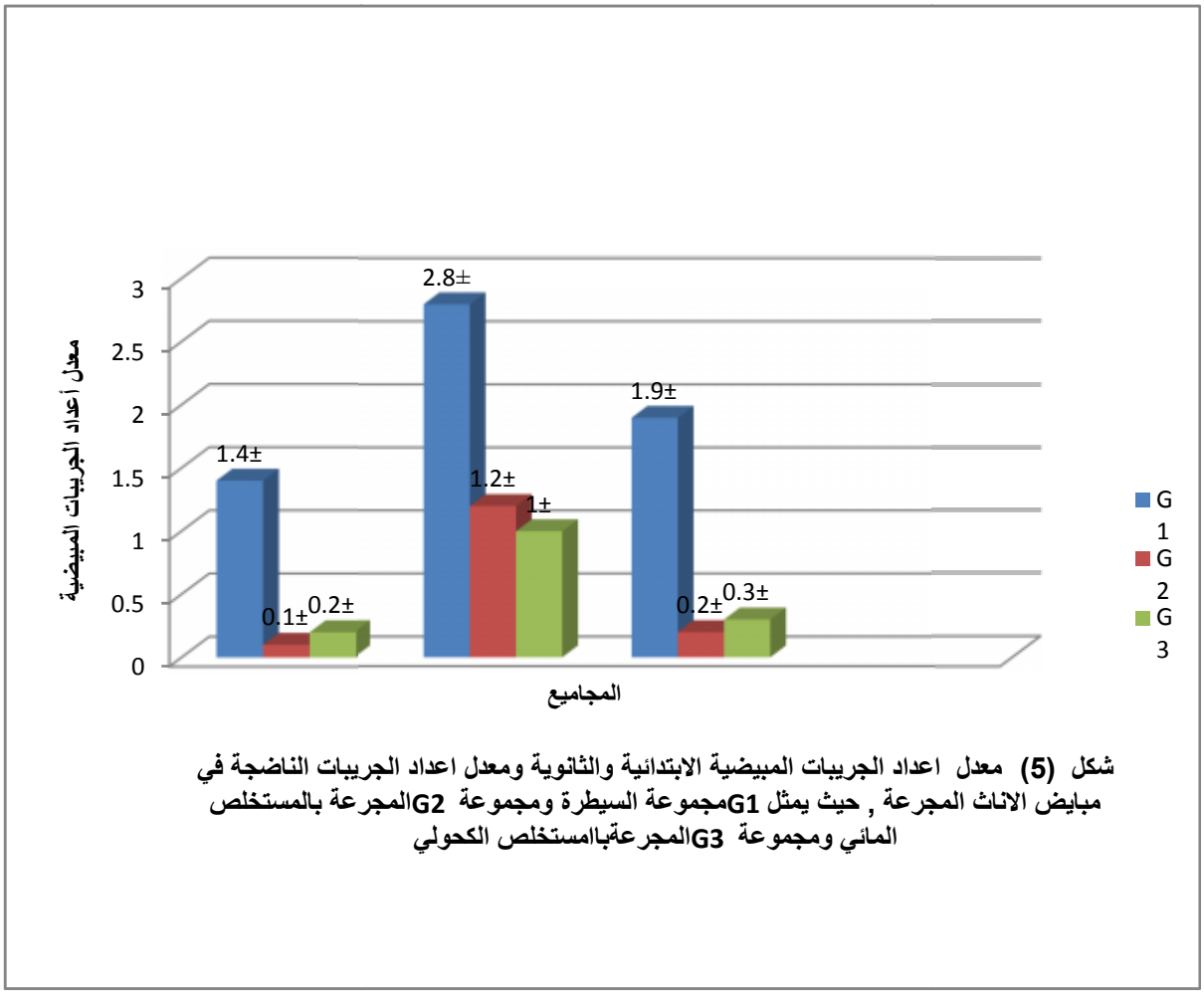
الشكل (2) مقطع في مبيض فارة من مجموعة السيطرة وتمثل مجموعة G1 ويظهر فيه التركيب النسيجي الطبيعي والجريبات الطبيعية الابتدائية والثانوية والناضجة مكونة من خلية البيضة والنطاق الشفاف الاسهم . صبغة هيماتوكسيلين–ايوسين .قوة تكبير 10x



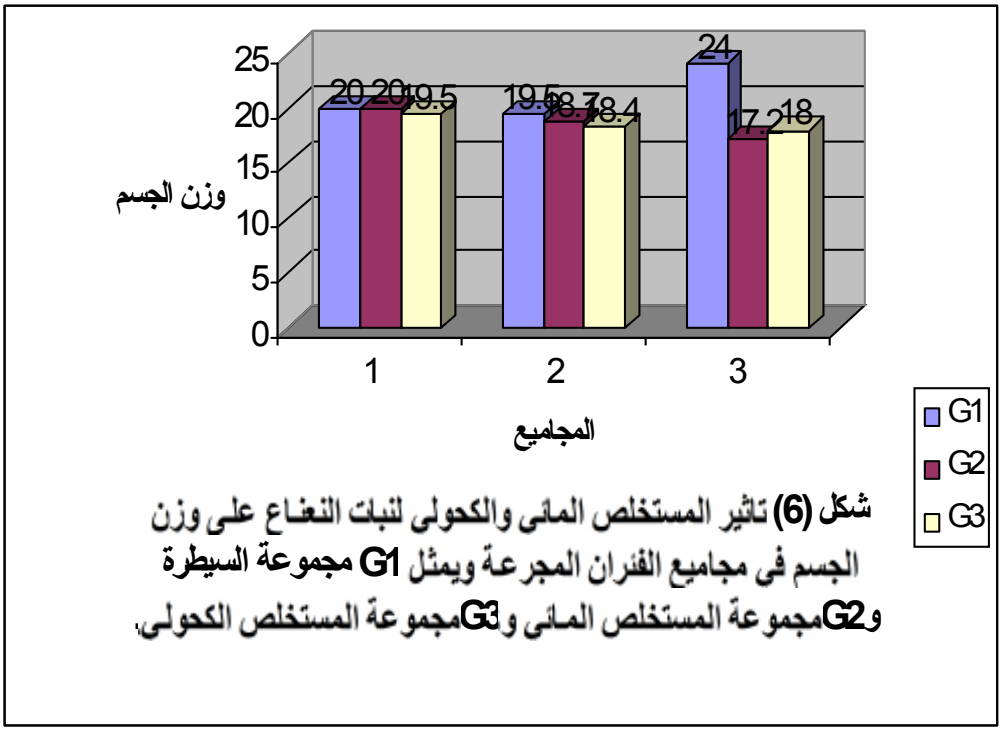
شكل (3) مقطع في مبيض فارة مجرعة بالمستخلص الكحولي لنبات النعناع ويلاحظ التنكس في خلايا الطبقة الحبيبية اللوتينية وتنكس في خلايا الطبقة القرابية الاسهم 0صبغة هيماتوكسيلين–ايوسين.40x



شكل (4) مقطع في مبيض فارة مجرعة بالمستخلص المائي لنبات النعناع يظهر فيه جريبات ناضجة متحللة وفيها تحلل كامل لخلية البيضة واختفاء النطاق الشفاف وتفكك التاج المشع وترشح الجريبة بخلايا الدم المختلفة الاسهم.صبغة هيماتوكسيلين –ايوسين 40x



شكل (5) معدل اعداد الجريبات المبيضية الابتدائية والثانوية ومعدل اعداد الجريبات الناضجة في مبايض الاناث المجرعة , حيث يمثل G1مجموعة السيطرة ومجموعة G2المجرعة بالمستخلص المائي ومجموعة G3المجرعةبامستخلص الكحولي



شكل (6) تاثير المستخلص المائى والكحولى لنبات النعناع على وزن الجسم فى مجاميع الفئران المجرعة ويمثل **G1** مجموعة السيطرة و**G2**مجموعة المستخلص المائى و**G3**مجموعة المستخلص الكحولى.