تأثير مستخلص بذور جوزة الطيب *Myristica fragrans* L. في وزن الجسم والكبد والتغيرات النسجية لكبد ذكورالفئران البيض.

تحرير محمد نطاح*
كلية الزراعة/ جامعة بابل

اسماعيل كاظم عجام
كلية الزراعة/ جامعة بابل

الخلاصة

هدفت الدراسة الى معرفة تأثير المستخلصين المائي والكحولي لبذور جوزة الطيب *Myristica fragrans* في وزن الجسم والكبد والتغيرات النسجية لكبد ذكورالفئران البيض.

استخدم في هذه الدراسة 24 ذكرا فارا سويسريا بالغا من سلالة Balb/C ، بعمر50-75 يوم، وبمعدل 25-35 غرام،وزعت عشوائيا الى مجموعة سيطرة ومجاميع معاملة وبعدل 8 لكل مجموعة، حيث استعملت جرعتان مختلفتان 50 و100 ملغم/كغم للمستخلص المائي و25 و50 ملغم/كغم للمستخلص الكحولي وحقنت الحيوانات تحت الجلد لمدة 6 اسابيع وبمعدل(0.2) مل، بواقع جرعة واحدة بين يوم وآخر، في حين حقنت حيوانات مجموعة السيطرة بمحلول الملح الفسيولوجي (0.9 % Nacl) وباستعمال الطريقة نفسها .

وأدت المعاملة بمستخلص جوزة الطيب الى عدم وجود فرق معنوي ($p>0.05$) في معدل وزن الجسم بعد المعاملة بمستخلصي جوزة الطيب. وانخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل وزن الكبد بعد المعاملة بالمستخلص المائي50 و100ملغم / كغم. تبين من الفحص المجهري للمقاطع النسجية لكبد الفئران المعاملة بمستخلصي جوزة الطيب تاثره نسجيا ،حيث لوحظت زيادة في حجم خلاياه وضيق في الجيبانيات Sinusoids بعد المعاملة بالمستخلص الكحولي ، بينما لوحظت زيادة في حجم خلايا الكبد وتنخر بعضها مع زيادة في حجم الوريد في نسيج كبد الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لجوزة الطيب مقارنة مع مجموعة السيطرة .

(المقدمة)

شكلت حكمة هبوقراط القديمة 377 ق.م (أجعل غذاءك هو اول دوائك) السبب في رجوع الانسان الى المستخلصات النباتية واعتمادها في علاج العديد من الامراض , حيث تكمن اهميتها في انها لا تحتوي في الغالب على مواد ذات تأثير جانبي ضار اذا ما قورنت بالعقاقير الطبية , و شكلت مصدرا للمركبات التي تدخل في تحضير العقاقير الطبية المختلفة , وتحتوي على مصادر شتى من الجزيئات المختلفة التي تمتلك جوهريا نشاطية بايلوجية على ايض الحيوان وفسلجته (Friedman&Jurgens,1999).

درس جوزة الطيب العديد من الباحثين وحللوا مكوناتها كيميائيا ، فوجدوا ان المكونات الرئيسة لجوزة الطيب هي تربينات Terpenes، وكحولات التربينTerpene alcohols ، وايثرات الفينول Phenolic ethers . ومن ايثرات الفينول الرئيسة هي ميرستيسين Myristicin والسافرول Safrole وايوجينول مثيل ايثر eugenol Methyl ether، حيث شكل Myristicin نسبة (2.12-2.88%) من الوزن الكلي، بينما شكل Safrole نسبة(0.27-0.39 %) .أوضحت التحليلات الكيميائية ان الزيوت تشكل نسبة (84-95%) من الاجزاء العطرية الكلية للزيوت الطيارة ، حيث وجد

* مستل من اطروحة ماجستير للطالبة تحرير محمد نطاح ، تمت مناقشتها /2005

ان نسبـــــة Elemicin , Safrole , Myristicin هـــي:(3.86- 12.7%) , (0.53-3.42%) , (0.02-2.36%) على التوالي لزيوت جوزة الطيب ،حيث تعاني هذه الزيوت في الجرع العالية الاكسدة في جانب Oleficin منتجة Vinyl alchol والذي يستطيع ان يعاني ازالـــــة الامين لانتاج 3,4,5-trimethoxy amphetamine (TMA) منتجة التاثيرات السمية، ويعتمد محتوى الزيوت الطيارة لجوزة الطيب على الاصل الجغرافي ومدة الخزن (Kaula,1997).

تستعمل مادة Methyleugenol الموجودة في جوزة الطيب بوصفها منكها وتستعمل ايضا في العطوروالكريمات والغسول والمنظفات والصابون ، وتستعمل ايضا بوصفها مبيدا للحشرات ومخدرا للقوارض . وعلى الرغم من استعمالاته المتعددة أقُر برنامج السمية العالمي National (NTP) Toxicology Program بانها مسرطنة للانسان مستندا بذلك الى دلائل واضحة في حيوانات التجربة ، حيث لوحظ انه عندما اعطي فمويا الى الفئران استحث اورام مسرطنة في الكبد والمعدة ، وعَد ذلك متعلقا بتعرضها الـى Methyleugenol وذكر ان التركيز المرغوب فيه هو(0.002-0.3%) وزيادة التركيز تعَد مسرطنة (NTP,1998;NTP,2000) .

أما(2004) EMEA فوجدت في الدراســة ان حقـنMethyleugenol فمويا بجرعة 300ملغم/كغم الى الفئران يسبب قلة في وزن الجسم في ذكور الفئران والاناث،وزيادة في وزن الكبد بجرعة30-1000 ملغم/كغم في الذكور و300-1000 ملغم/كغم في الاناث، وزيادة في التغيرات السايتوبلازمية ،وتنخرا،والتهابا حادا في ذكور الفئران عند جرعة 1000ملغم /كغم و300-1000ملغم/كغم في الاناث ، وضمورا وتحطما في الغددالمعدية في 30 ملغم/كغم في الفئران .

وذكر(2001).George et al ان Isoeugenol الموجود في جوزة الطيب المستعمل بوصفه مادة منكهة في الاطعمة ، يعَد مسرطنا ايضا بحسب (NTP) لتشابه تركيبه مع المسرطنات وهي: Estragole Isosafrole , Safrole , Eugnol .

المواد وطرائق العمل

استعمل 24 ذكرا فارا وزعت الى ثلاث مجاميع:

المجموعة الاولى : مجموعة السيطرة حقنت بكمية (0.2) مل من المحلول الملحي الفسيولوجي (0.9%) تحت الجلد (حقنة واحدة صباحا) بين يوم واخر.

المجموعة الثانية : مجموعة الحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي لجوزة الطيب 50 و100 ملغم/كغم وحقنت بكمية (0.2) مل بتركيزيه تحت الجلد (حقنة واحدة صباحا) بين يوم واخر .

المجموعة الثالثة : مجموعة الحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي 25 و50 ملغم/كغم وحقنت بكمية (0.2) مل بتركيزيه تحت الجلد (حقنة واحدة صباحا) بين يوم واخر .

وحدت تقريبا اوزان الحيوانات المعاملة ومجموعة السيطرة وذلك بوزن كل مجموعة قبل القيام باول عملية حقن، ووزنت كل مجموعة بعد يومين من كل حقنة وبعد يومين من اخر حقنة معطاة خلال التجربة الكاملة.

ضحي بالحيوانات بطريقة الخلع العنقي Cervical disslocation، ثم فتح التجويف البطني استؤصلت اكباد الحيوانات بعد اخراجها من الجوف الجسمي ثم وضعت في محلول ملحي فسيولوجي ، وأزيلت الزوائد الدهنية والاغشية المرتبطة بها ، ثم نقلت الى ورق نشاف كي تجف ، ثم نقلت الى مثبت بوين ولمدة 24 ساعة ، بعد ذلك وضعت في محلول متعادل كحول اثيلي(70 %) وحفظت لحين تحضير المقاطع النسجية منها .

فحصت الشرائح النسجية للكبد ، واختير اثنان منها لكل حيوان بشكل عشوائي حيث درست التغيرات المحتملة التي يحدثها المستخلص في نسيج الكبد تحت قوة التكبير ×40 لمعرفة تاثيرات المستخلص

النسيج ، متضمنا بذلك احجام خلايا كبفر Kupffer cells , والخلايا الكبدية Hepatocytes , او الخلايا المبطنة الجيبية Sinusoidal endothelial cells.

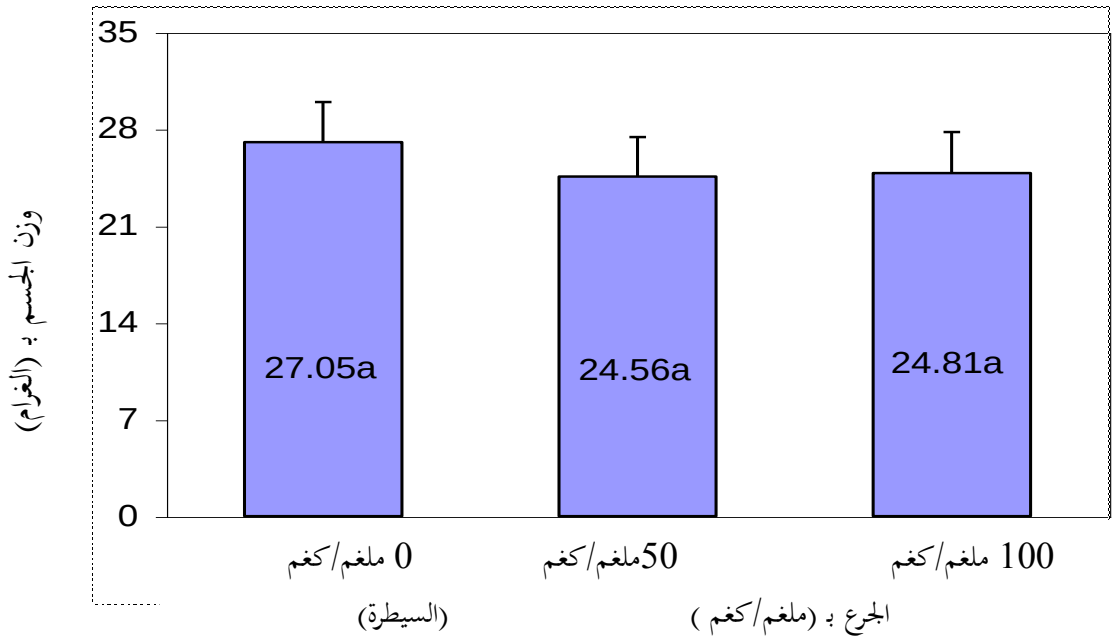
حللت النتائج احصائيا على وفق التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design(CRD) باستخدام اختبار (F) ، واستخدام اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference Test (LSD) لاظهار معنوية النتائج، وحسب الخطا المعياري Standard Error(SE) لهذه البيانات(الراوي،2000).

النتائج

تظهر الأشكال (1) و (2) عدم وجود فروق معنوية في معدل وزن الجسم للحيوانات المعاملة بمستخلصي جوزة الطيب مقارنة مع مجموعة السيطرة .

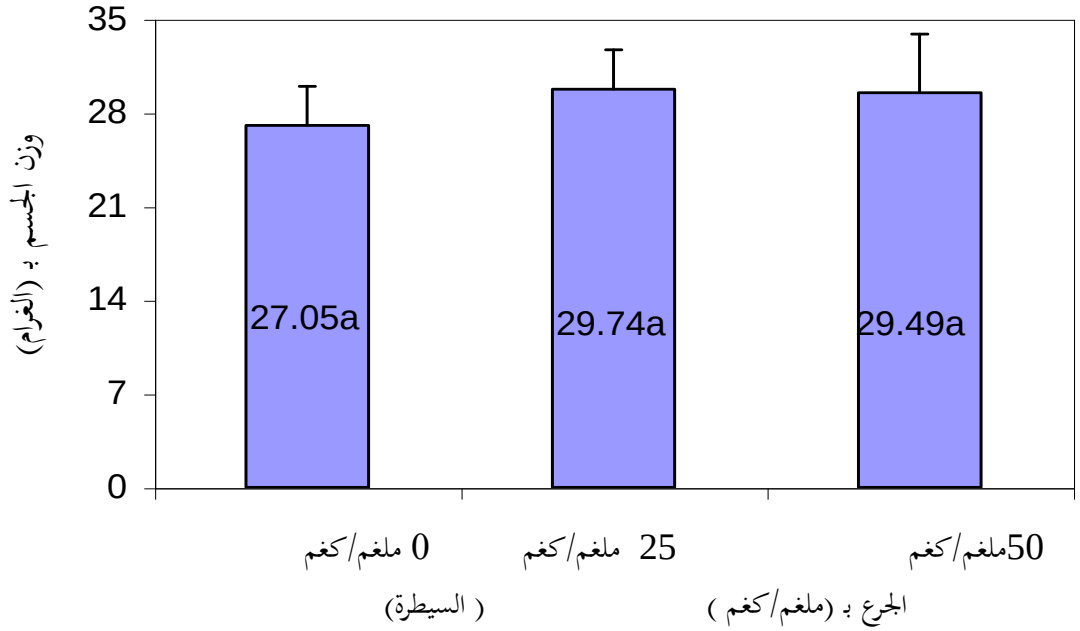
وأظهرت النتائج في الشكل (3) حصول انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في معدل وزن الكبد للحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي لجوزة الطيب بتركيزيه ، في حين اظهر الشكل (4) عدم وجود فروق معنوية في معدل وزن الكبد للحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي لجوزة الطيب بتركيزيه مقارنة بمجموعة السيطرة .

بينما تبين من الفحص المجهري للمقاطع النسجية لكبد الفئران المعاملة بمستخلصي جوزة الطيب تاثر الكبد نسجيا ،حيث لوحظت زيادة في حجم خلايا الكبد وضيق في الجيبانيات Sinusoids (صورة5,4,3,2) ، بينما لوحظت زيادة في حجم خلايا الكبد وتنخر بعضها مع زيادة في حجم الوريد (v) في نسيج كبد الفئران المعاملة بالمستخلص المائي لجوزة الطيب (صورة 3,2) قياسا بمجموعة السيطرة (صورة 1).



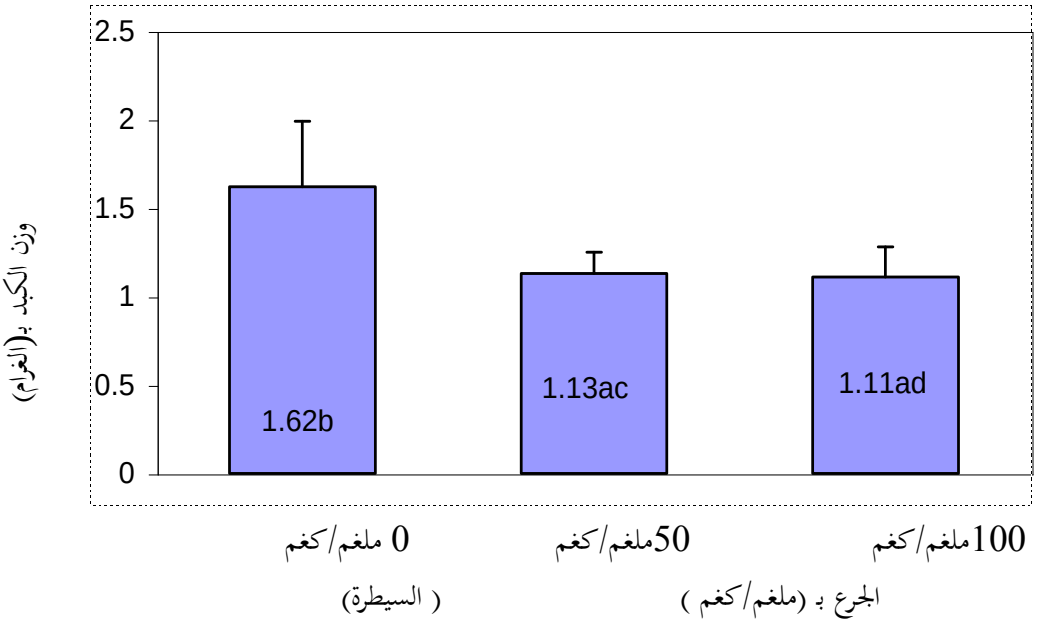
الشكل (1) تأثير التركيز المختلفة المستخلص المائي لجوزة الطيب في وزن الجسم للفئران البيض

الاحرف المتشابهة دلالة على وجود فرق غير معنوي (P> 0.05) T, الخطأ المعياري



الشكل (2) تأثير التركيز المختلفة المستخلص الكحولي لجوزة الطيب في وزن الجسم للفئران البيض

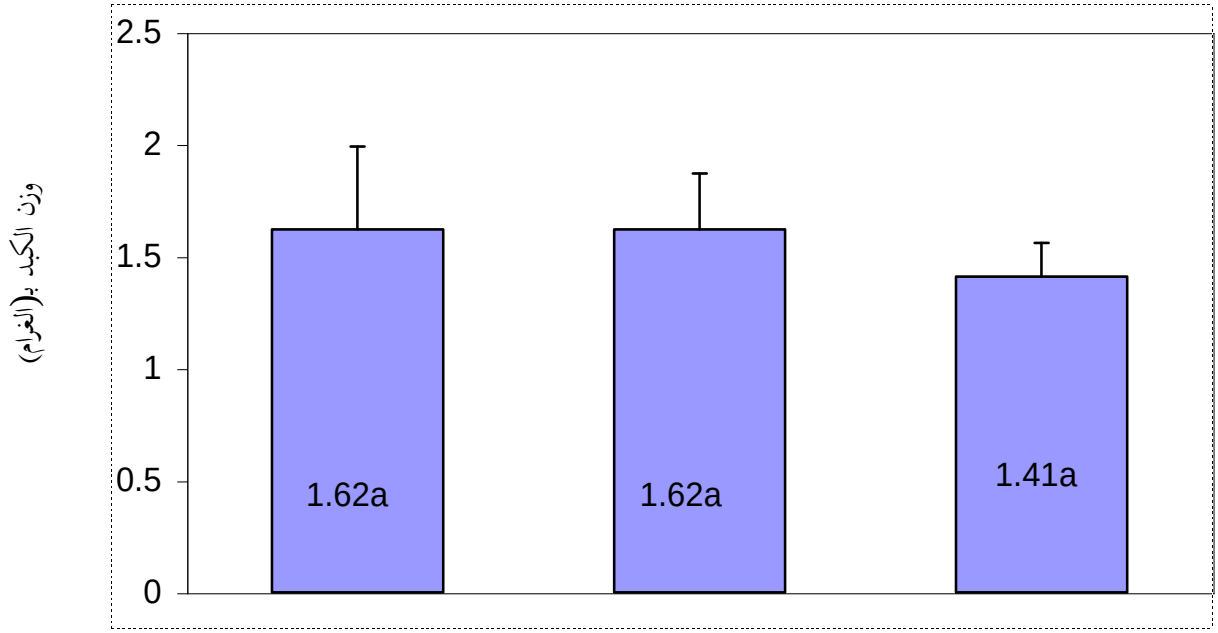
الاحرف المتشابهة دلالة على وجود فرق غير معنوي (P> 0.05),T الخطأ المعياري



الشكل (3)تأثير المستخلص المائي لجوزة الطيب في وزن الكبد للفئران البيض

LSD 0.05=0.40

الاحرف المتشابهة دلالة على وجود فرق غير معنوي (p>0.05) ، الاحرف المختلفة المنفردة دلالة على وجودفرق معنوي (p<0.05) ، T الخطا المعياري

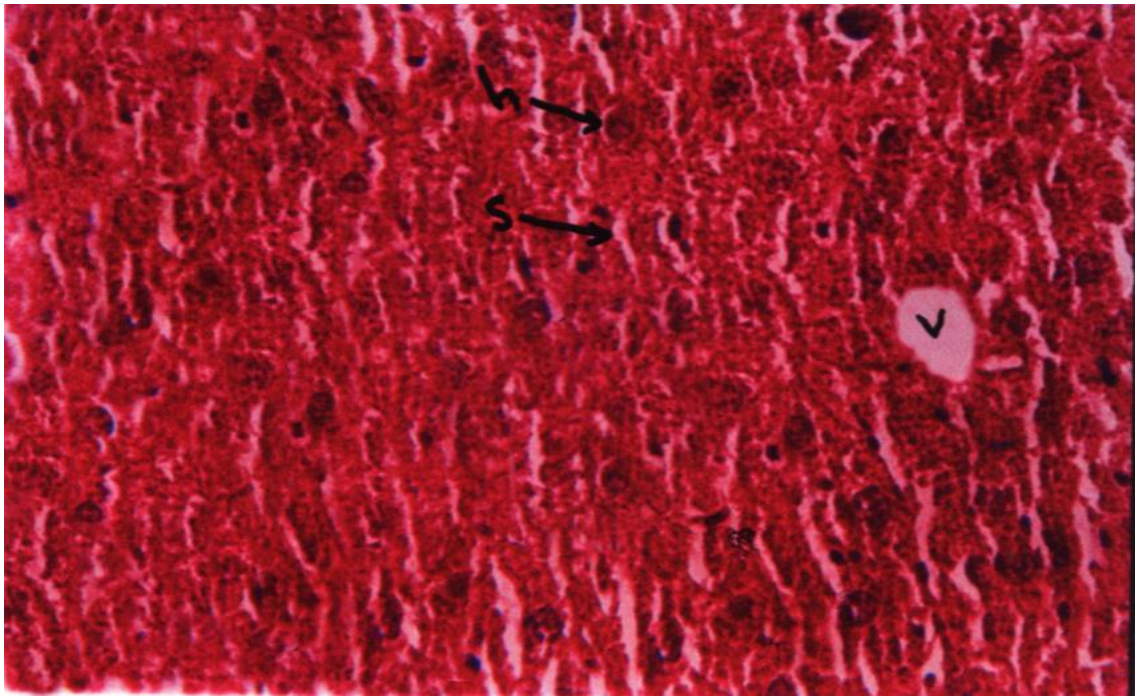


50ملغم/كغم 25ملغم/كغم 0 ملغم/كغم

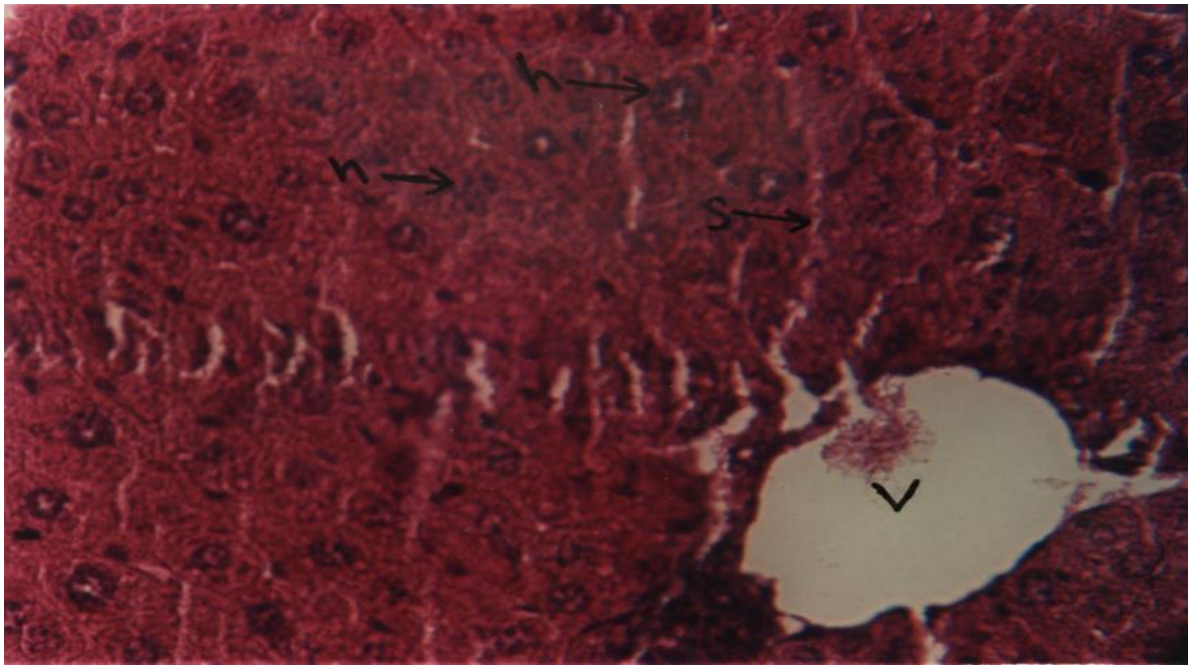
الجرع بـ (ملغم/كغم) (السيطرة)

الشكل (4)تأثير المستخلص الكحولي لجوزة الطيب في وزن الكبد للفئران البيض

الاحرف المتشابهة دلالة على وجود فرق غير معنوي($p>0.05$) ، T الخطا المعياري

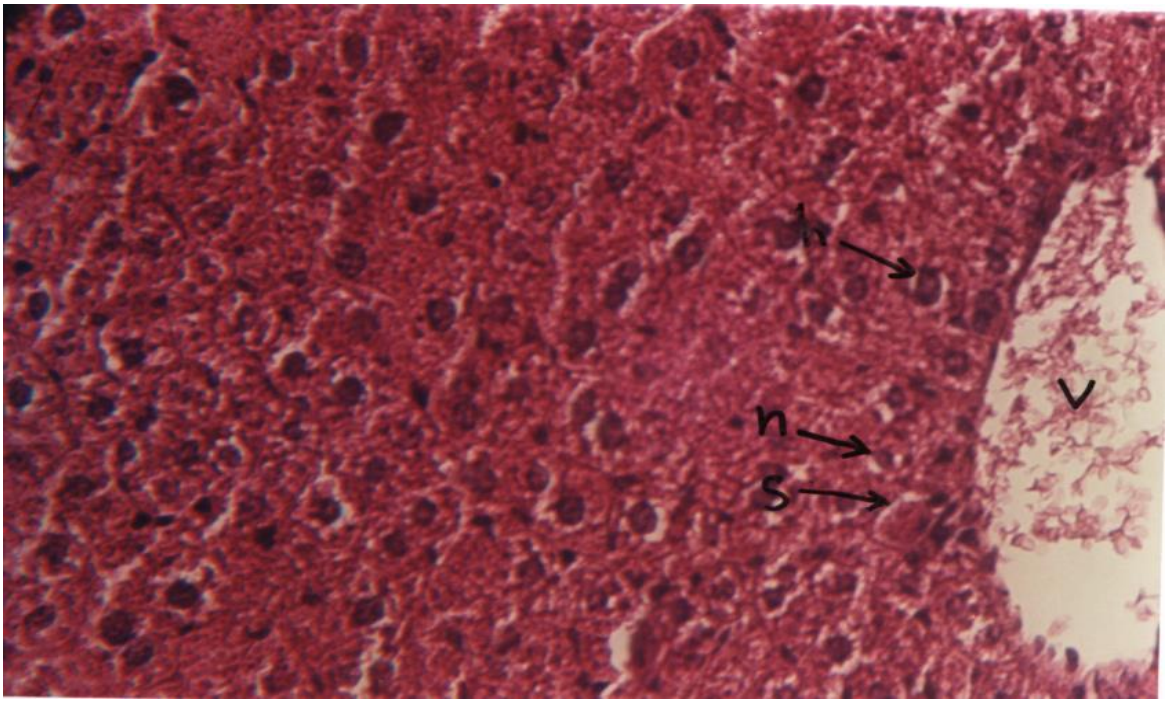


صورة (1)مقطع مستعرض في كبد الفئران لمجموعة السيطرة يلاحظ فيه : الحجم الطبيعي لخلايا الكبد (h) ، الشكل الطبيعي للجيبانيات (S)، الوريدالمركزي (V) (هيماتوكسلين– ايوسين 500x)



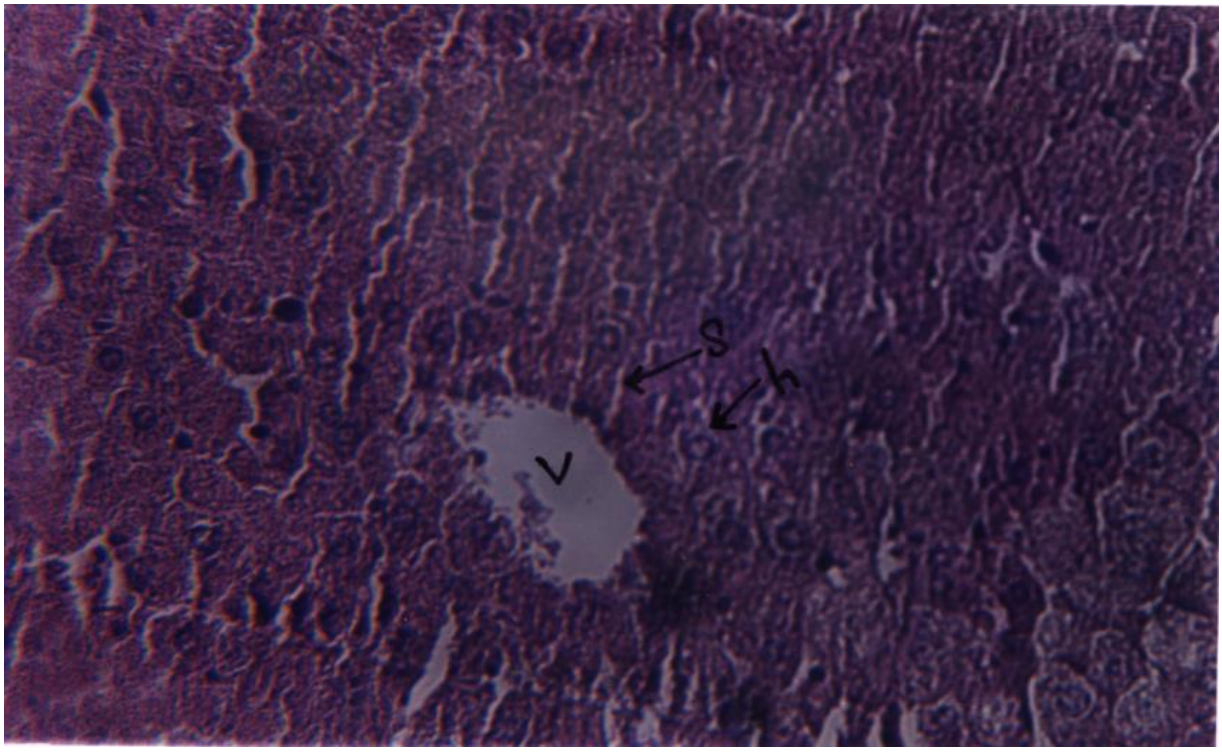
صورة(2)مقطع مستعرض في الكبد لذكر معامل بالمستخلص المائي (50ملغم/كغم) يلاحظ فيه : زيادة في حجم خلايا الكبد (h) وتنخر في بعضها (n) ، وزيادة في حجم الوريد (V) ،وضيق في الجيبانيات (S)

(هيماتوكسلين– ايوسين 500x)

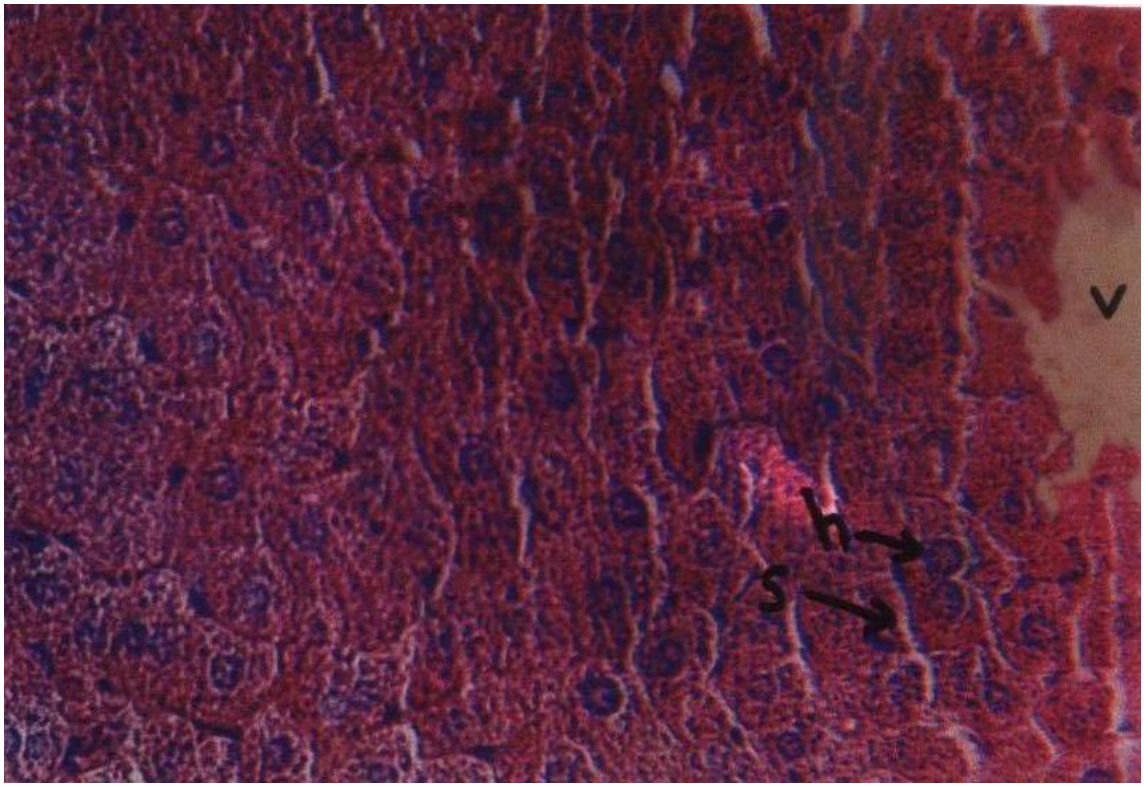


صورة(3)مقطع مستعرض في الكبد لذكر معامل بالمستخلص المائي (100ملغم/كغم) يلاحظفيه : زيادة في حجم خلايا الكبد (h) وتنخر في بعضها (n) ، وزيادة في حجم الوريد (V) ،وضيق في الجيبانيات (S)

(هيماتوكسلين– ايوسين 500x)



صورة(4)مقطع مستعرض في الكبد لذكر معامل بالمستخلص الكحولي (25ملغم/كغم) يلاحظ فيه : زيادة في حجم خلايا الكبد (h) ،وزيادة في حجم الوريد (v) ، وضيق في الجيبانيات (s) (هيماتوكسلين– ايوسين 500x)



صورة(5)مقطع مستعرض في الكبد لذكر معامل بالمستخلص الكحولي (50ملغم/كغم) يلاحظ فيه : زيادة في حجم خلايا الكبد (h) ،وزيادة في حجم الوريد (v) ، وضيق في الجيبانيات (s) (هيماتوكسلين– ايوسين 500x)

المناقشة

دلت نتائج الدراسة عدم تأثر وزن الجسم الكلي لذكور الفئران المعاملة بالمستخلصين المائي والكحولي لجوزة الطيب معنويا ، وعزي سبب ذلك الى أن جوزة الطيب تعَد من المنكهات التي لا تزيد من وزن الجسم حيث تعد جوزة الطيب من المنظمات الوزنية weight management (Jackson,2003) .

وأظهرت نتائج الدراسة عدم تأثر وزن الكبد في الحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي لجوزة الطيب معنويا ، بسبب احتواء جوزة الطيب على مضادات الأكسدة ، حيث تحتوي جوزة الطيب على مركب erythro- 8.4- oxyneolign-8-enes (Konya *et al* ,2004)، وعلى المركبات الفينولية Safrole الذائب فقط في المستخلص الكحولي وغير الذائب في المستخلص المائي (Durham ,2000) حيث تعمل مضادات الأكسدة على حماية الكبد من السموم، في حين حصل انخفاض معنوي ($p<0.05$) في معدل وزن الكبد للحيوانات المعاملة بالمستخلص المائي وسبب تنخراً في بعض خلايا الكبد Hepatocytes نتيجة التعرض المستمر للمادة السامة حيث تحتوي جوزة الطيب على مادة سامة مخدرة (ميرستين Myristine) التي يظهر تأثيرها في الجرع العالية (قدامة ، 1981).

استمرار تعرض خلايا الكبد للمادة السامة وقلة مضادات الأكسدة التي يحتويها كانت السبب في هذا التأثير القليل للمادة السامة في بعض الخلايا الكبدية حيث يظهر التأثير الأكثر للمادة السامة بزيادة التركيز ففي الجرع العالية جدا تسبب تنخراً كبدياً وتلفاً للكبد(NTP,1998;NTP,2000; Durham,2000) وقد انعكست هذه الحقيقة ضمن الدراسة الحالية فلوحظ أن نسبة التنخر كانت أكثر في جرعة100

ملغم/ كغم مقارنة بجرعة 50 ملغم/كغم وعلى الرغم من ذلك التنخر في بعض الخلايا الكبدية أستمر الكبد في أداء كامل وظائفه لقدرته الفائقة على إصلاح الجزء المتضرر .

أظهر الفحص المجهري للمقاطع النسجية حصول تغيرات نسجية في كبد الحيوانات المعاملة بالمستخلص الكحولي والمستخلص المائي حيث لوحظت المحافظة على الترتيب الشعاعي حول الوريد المركزي Central vein وصغر في الجيبانيات Sinusiods نتيجة لزيادة حجم الخلايا الكبدية Hypertrophy لأن المستخلص يتجمع ويتأيض داخل الخلايا ولاحتواء المستخلص على مركبات كيميائية مضرة للكبد يمكن أن تخزن داخل فجوات خلايا الكبد فيزداد حجم خلايا الكبد مما يؤدي الى ضيق الجيبانيات كما لوحظ أن قطر الوريد المركزي بدأ بالزيادة مع زيادة التركيز وهذا يفسر زيادة الأيض داخل الخلايا فيزداد بذلك التجهيز الدموي في الوريد المركزي لم تؤثر هذه الزيادات في وزن الكبد لانه كان يقابلها تنخر في بعض الخلايا الكبدية وارتفعت النسبة في الخلايا الكبدية المعاملة بالمستخلص المائي لعدم احتوائها على مضادات للاكسدة، إلا أنه في المستخلص المائي لوحظ تنخر في بعض خلايا الكبد وفي جرعة100 ملغم / كغم لوحظ تنخر أكثر في الخلايا الكبدية مما عليه في جرعة 50 ملغم / كغم كما لوحظ صغر أكثر في الجيبانيات وكبر في حجم الخلايا الكبدية بسبب زيادة التركيز وقلة مضادات الأكسدة التي يحتويها في حماية الكبد حيث تعمل مضادات الأكسدة على حماية الكبد من السموم لكونها مقاومة للتأكسد ولأنها تمتلك نشاطية كلابية Chelating activity ضد المركبات التي يمكن أن تحدث ضرر للكبد (Hewawasam *et al*.2004) .

وهذا يتفق مع ماذكره (Orisakwe *et al*. (2003 من أن المستخلص المائي لجذور نبات *Boerhavia diffusa* يعمل على حماية الكبد من السموم لاحتوائه على الفلافونات Flavonoids وهي من مضادات الأكسدة والمعروفة بكونها مقاومة للتأكسد وكاسحة للجذور الحرة Free radical ومضادة لبيروكسيد اللبيد Lipid peroxidation المسؤول عن تلف الكبد وهي تقود جميعها الى حماية الكبد .

ذكر (psotova *et al*. (2003 أن المستخلص العضوي لنبات القلاع *Prunella vulgaris* يعمل على حماية الكبد من السموم لاحتوائه على مضادات الأكسدة التي تتمثل بحامض روزمارك Rosmaric acid حيث يمتلك نشاطية مقاومة للتأكسد قوية زيادة على كونه ذا نشاط كلابي ضد المركبات التي يمكن ان تحدث ضرراً في الكبد ، وكذلك حامض كافيك Caffeic acid الذي يمتلك فعلاً قوياً في حماية الخلايا الكبدية .

وعلى الرغم من التأثير الذي حدث في المستخلص المائي من حيث التنخر في بعض الخلايا الكبدية لم يتأثر الكبد في أداء وظائفه،حيث يتميز هذا العضو بمقدرته الفائقة على قيامه بأداء كافة الوظائف كاملة دونما ظهور أعراض مرضية حتى في حالة بقاء نسبة لاتتجاوز العشرين بالمئة من كتلته سالمة من الضرر مع كفاءة هذا الجزء المتبقي على تعويض خلايا النسيج التالف (المسعودي،2001) وانعكست هذه الحقيقة ضمن هذه الجرعة من المستخلص المائي في البحث الحالي .

الاستنتاجات والتوصيات

بناءً على النتائج المستحصلة من الدراسة الحالية يمكننا استنتاج ما يلي :-

1. ليس لمستخلص جوزة الطيب بشكل عام أثر في زيادة وزن الجسم والكبد .
2. ليس لمستخلص جوزة الطيب اثار جانبية مضرة في نسيج الكبد ضمن الجرع المقررة في الدراسة الحالية .

توصي هذه الدراسة بالاتي :-

1. استخدام جوزة الطيب ضمن الجرع المقررة في الدراسة الحالية وعدم استخدامها بالجرع العالية لتأثيراتها المضادة في الوزن والكبد وبقية الاعضاء .
2. التوجة نحو تجربة استخدام مستخلص قشور جوزة الطيب ومستخلص نواة جوزة الطيب ومعرفة مدى تأثيراتهما في الوزن والكبد والمقارنة بينهما.
3. استخدام مواد اخرى للاستخلاص مثل الايثر والكلوروفورم ومقارنة النتائج مع الكحول.

المصادر

الراوي ، خاشع محمود (2000) . مدخل الى الاحصاء . الطبعة الثانية ، كلية الزراعـة والغابات، جامعة الموصل .

قدامة ، احمد (1981) . قاموس الغذاء والتداوي بالنبات . طبعة اولى ، بيروت .

المسعودي،هيـام خالص (2001) . استخدام مستخلصات الثـوم وقشور ثمار الرمان في معالجة الفئران البيض المصابة بالمشعرات الفـأرية ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بابل .

Durham , NC. (2000). Draft report on carcinogens background document for methyleugenol . Technology planning and management corporation . Canterbury Hall , 4815 Emperor Blvd , NO1- ES-85421 .

EMEA (The European Agency for the evalution of medicinal products evalution of medicines for human use) (2004) . Final position paper on the use of herbal medicinal product containing methyleugenol . London . EMEA/HMPWP/337/03 , 1:5 .

Friedman,M. and Jurgens,H.(1999).Effect of pH on the stability of plant polyphenols,U.S. Agriculture Research Report. United States Department of Agriculture.

George,J.D.;Price,C.J.;Marr,M.C.;Myers,C.B. and Jahnke,G.D. (2001). Evalution of the developmental toxicity of Isoeugenol in Sprague-Dawley(CD)rats.Toxicological Sciences,60:112-120.

Hewawasam , R.P. ; Jayatilaka , K.A.P.W. ; Pathirana , C. and Mudduwa , L.K.B.(2004).Hepatoprotective effect of *Eplates divaricata* extract on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice.Indian J Med Res,120:30-34.

Huang,S-Z.;Luo,Y-J.;Wang,L. and Cai,K-Y.(2005).Effect of *Ginko biloba* extract on livers in aged rats.World JGastroenterol,11(1):132-135.

Jackson,MS.(2003).Weight management.The University of Missippi Medical Center.

Kaula,L.(1997). *Myristica fragrans*.International programme on chemical safety poisons information monograph 355 plant,Malaysia.

Konya,K.;Kurtan,T.;Kiss-Scikszai,A.;Juhasz,L.and Antus , S. (2004). Ageneral CD-method for the configurational assignment of erythro-8.4′-oxyneolign-8′-enes.Arkivoc,(xiii):72-78.

NTP (National Toxicology Program)(1998) . Toxicology and Carcinogenesis studies of methyleugenol (CAS NO. 93-15-12) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies) . NTP Technical Report 491 . Research Triangle Park , NC: National Toxicology Program .

NTP (National Toxicology Program)(2000) .Toxicology and Carcinogenesis studies of methyleugenol (CAS NO. 93-15-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies) . NTP-TR-491 ; NIH Publication NO.00-3950 .

Orisakwe,O.E.;Afonne,O.J.;Chude,M.A.;Obi , E.and Dioka, C.E. (2003) . Sub-chronic toxicity studies of the aqueous extract of *Boerhavia diffusa* leaves.J.of Health science,49(6):444-447.

Psotova,J.;Kolar,M.;Sousek,J.;Svagera,Z.;Vicar,J and Ulrichova , J . (2003) . Biological activities of *Prunella vulgaris* extract .Phytother. Res . , 17:1082-1087.

SUMMARY

The aime of this work is to study the effect of aqueous and alcoholic extracts of *Myristica fragrans* L. Seeds on the body and liver weight and on histological changes of liver of albino mice .

twenty four Swiss male mice of Balb/C strain were used aged 50-75 day, and weighed 25-35 gm. the mice were divided randomaly into control group and treated groups.

Two doses were used 50 and 100 mg/kg for aqueous extract , 25 and 50 mg/kg for alcoholic extract,and the animals were injected subcutaneous for 6 weeks as one dose every 48hr,while the mice of the control groups were injected with normal saline(Nacl %0.9) in the same way.

Treatment with *Myristica fragrans* L. extract revealed the following changes:-

The average body weight did not effected Significantly ($p>0.05$) by the treatment, Significant decrease ($p<0.05$) in the average of liver weight after treatment with the aqueous extract 50 and 100 mg/kg , the microexamination of the liver of alcoholic extracts treated groups showed an increase the hepatic cell and narrow of sinusoids, while the aqueous extracts treated group showed an increase in the size of liver cells with anicrosis of some cells with increase of vinous size in mice liver tissue comparition with control group.