

## دراسة تقييم تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء *Vitex agnus* في خصوبة اناث الارانب

عبد الامير عيدان الجبوري\*  
معشوب / مؤسسة الطب التكميلي\*  
د. عبيد جواد يوسف الفتلاوي\*\*  
كلية العلوم الطبية التطبيقية / جامعة كربلاء\*\*  
د. مريم محمد برهان\*\*\*  
كلية الطب / جامعة بابل\*\*\*

### المستخلص

تهدف هذه الدراسة الى معرفة تأثير المستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء *Vitex agnus* في خصوبة اناث الارانب. استخدم في هذه الدراسة ثلاثون من اناث الارانب بعمر 8-10 اسبوع، قسمت الحيوانات عشوائيا الى ثلاث مجاميع بواقع عشرة من اناث الارانب في كل مجموعة. جرعت المجموعة الثانية فمويا بتركيز 50 مل/كغم، والمجموعة الثالثة بتركيز 100 مل/كغم بينما اعتبرت المجموعة الاولى مجموعة السيطرة اعطيت ماء الحنفية استخدمت لأغراض المقارنة. استمرت المعاملة لمدة 15 يوم. اظهرت النتائج انخفاض معنويا ( $p \leq 0.05$ ) في وزن الجسم الكلي لكلا المجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة. بينما لوحظ ارتفاع معنويا ( $p \leq 0.05$ ) في اوزان الاعضاء التكاثرية لكلا المجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة. تبين الدراسة الهرمونية ارتفاع تركيز الهرمونات الجنسية بصورة معنوية ( $p \leq 0.05$ ) لكلا المجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة. اظهرت النتائج ان هناك ارتفاعا معنويا ( $p \leq 0.05$ ) في عدد الجريبات المبيضية الاولى والثانوية وكذلك اعداد واقطار الاجسام الصفراء لكلا المجموعتين مقارنة مع مجموعة السيطرة. اظهرت الدراسة الحالية ان المستخلص المائي لأوراق نبات *Vitex agnus* له تأثيرا ايجابيا على خصوبة اناث الارانب.

كلمات مفتاحية: نبات اصبع العذراء، الخصوبة، اناث الارانب

### Abstract

The aim of present study was to investigate the effect of aqueous leaf extract of *Vitex agnus* on fertility of females' rabbits. Thirty female used in age (8-10)weeks, randomly divided in to three groups the second and third groups treated with (50 and 100 ml/kg) from aqueous leafs extract respectively while the first group consider as control treated with tap water used for compared. The treated continuous for 15 days. The result showed significant decrease ( $p \leq 0.05$ ) in the total body weights for both groups treated with different doses of *Vitex agnus* as compared with control group. The result also showed significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the weight of reproductive organs (ovaries and uterus) for both groups treated with different doses of *Vitex agnus* as compared with control group. As well as, hormonal study demonstrated significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the hormone concentration (LH, FSH, Estrogen and progesterone) of blood serum for both groups treated with different doses of *Vitex agnus* as compared with control group. Finally study demonstrated significant increase ( $p \leq 0.05$ ) in the number and diameters of corpus lutes, primary follicles and secondary follicles for both groups treated with different doses of *Vitex agnus* as compared with control group.

**Key words:** *Vitx agnus*, female rabbits, fertility.

## المقدمة :

تؤدي المملكة النباتية دورا كبيرا في خدمة الانسان وذلك لكونها مصدرا مهما للعديد من الادوية والمستحضرات الطبية وتكمن الفائدة الصيدلانية لهذه النباتات في قابليتها على انتاج العديد من المركبات العضوية ذات الخصائص الصيدلانية والتي تدخل كمادة اولية او عوامل مساعدة في صناعة الادوية (18). نبات اصبع العذراء *Vitx agnus* من العائلة الفربيونية *Verbenaceae*، شجرة دائمة الخضرة ، تزرع كنبات زينة ونبات طبي لذا اتجه العلماء والباحثون في مختلف انحاء العالم الى دراسة النباتات الطبية ومعرفة تأثيراتها وفوائدها الدوائية وذلك لأهميتها الكبيرة من الناحيتين العلمية والاقتصادية, تحتوي اوراق شجرة اصبع العذراء على مركبات هرمونية ومواد مضادة للالتهابات (1,2). وقد استخدمت هذه النبتة قبل مئات السنين من اجل تنشيط وتنظيم الفعالية التكاثرية لاعضاء الحيوانات (11) . كما استخدمت هذه النبتة من قبل دوائر الصحة في المانيا لتحسين حالات عدم انتظام الدورة الشهرية واعراض سن الياس المبكر وتليف بطانة الرحم (7) . كذلك استخدمت هذه النباتات في الطب التقليدي لعلاج المرضى المصابين بالسكر من النوع الثاني *type 2 diabetes mellitus (DM)* (4). كما اظهرت العديد من الابحاث اهمية استخدام هذه النبتة مع عقاقير كيميائية مثل *metformin* لعلاج حالات التكيس المبيضي *PCOS* (polycystic ovarian syndrome) التي تعاني منها عدد كبير من النساء (8). هدفت الدراسة الى معرفة تاثير اوراق نبات اصبع العذراء على خصوبة اناث الارانب وذلك لقلّة الدراسات في هذا الجانب على هذا النبات لذلك صممت هذه التجربة للتعرف على مدى تاثير المستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء *Vitx agnus* على الخصوبة.

## المواد وطرائق العمل:

### جمع العينات *collection samples*

جمعت اوراق شجرة اصبع العذراء *Vitx agnus* من الاسواق المحلية في محافظة كربلاء و تم غسلها بالماء المقطر وجففت في الظل عند درجة حرارة 25م° وجمعت الاوراق ووضعت في كيس نايلون وحفظت في الثلاجة الى حين الاستخدام .

### تحضير المستخلص المائي *preparation for equaes extract*

تم تحضير المستخلص المائي لاوراق شجرة اصبع العذراء *Vitx agnus* حسب طريقة (12).

### تصميم التجربة

استخدمت 30 انثى من الارانب البالغة بمتوسط وزن (0.5-1) كغم وبعمر (8-10) اسابيع. قسمت عشوائيا الى ثلاث مجاميع بواقع 10 انثى لكل مجموعة .المجموعة الثانية جرعت بتركيز 50مل/غم/يوم، وجرعت المجموعة الثالثة بتركيز 100مل/غم/يوم من المستخلص المائي، بينما اعتبرت المجموعة الاولى مجموعة السيطرة لأغراض المقارنة عوملت بماء الحنفية . استمرت المعاملة لمدة 15 يوم.

### وزن الجسم الكلي واوزان الاعضاء التكاثرية (الرحم، المبايض):

سجل وزن الجسم الكلي لإناث الارانب قل التجربة وبعدها باستخدام ميزان ميكانيكي اعتيادي بينما سجلت اوزان الاعضاء التكاثرية (الرحم، المبايض) وبعد ازالة المواد الدهنية وغسلها بالماء المقطر وتنشيفها بواسطة ميزان الكتروني حساس.

### التضحية بالحيوانات وجمع الدم:

سحب الدم من القلب مباشرة عن طريق طعنة القلب بعد 24 ساعة من اخر تجريع قبل قتل الحيوانات ثم اجريت الدراسة الهرمونية بقياس تركيز الهرمونات الجنسية الاربعة (الاستروجين، البروجسترون، الهرمون اللوتيني، والهرمون المحفز للجريبات) في مصل الدم باستخدام العدة Kit الخاصة لكل فحص منها، والمزودة من شركة biomeriux الفرنسية والتي تعتمد على المبدأ الاساسي في تقنية التحليل المناعي الاشعاعي radioimmuno assay .

### القياسات النسيجية

تمت القياسات النسيجية لشرايح المبايض حيث سجلت اقطار الاجسام الصفراء والجريبات باستخدام مقياس المصغر العيني والمسرحي ocular and stage micrometer المثبت بالمجهر الضوئي باستعمال العدسة العينية قوة 10X مع الشبئية قوة 40X. تم اعتماد معدل القطر بأخذ متوسط القطرين العمودي والافقي.

**التحليل الاحصائي:** تم التعبير عن النتائج بالمعدل  $\pm$  الخطأ القياسي من خلال تحليل النتائج بواسطة برنامج التحليل الاحصائي SAS.USA/version 9 (2004). تم حساب المتوسط باستعمال اختبار لتحليل التباين. وتم حساب المعنوية باستعمال اختبار اقل فرق معنوي Least significant differences (LSD) على مستوى احتمالية  $(p \leq 0.05)$  (3).

### النتائج والمناقشة:

تبين نتائج الجدول رقم(1) حصول انخفاض معنوي  $(p \leq 0.05)$  في معدل وزن الجسم الكلي لإناث الفئران المجرعة بالمستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء بعد انتهاء مدة التجريع وبكلتا المجموعتين الثانية والثالثة بالمقارنة مع حيوانات المجموعة الاولى السيطرة.

جدول رقم (1) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات *Vitex agnus* على وزن الجسم الكلي لإناث الارانب

المجموعة	الوزن قبل المعاملة (g)	الوزن بعد المعاملة (g)
المجموعة الاولى السيطرة	A * 604.6± 42	A 760.4 ± 34
المجموعة الثانية 50مل/كغم	A 570.4± 22	B 527.6± 32
المجموعة الثالثة 100مل/كغم	A 555.8± 25	B 502.6± 35
LSD**	34.0	232.0

\* الحروف المختلفة عموديا تشير الى وجود فرق معنوي، \*\* مستوى المعنوية  $P \leq 0.05$  المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي.

يبدو ان التأثير السلبي للمستخلص على وزن الجسم الحي والذي يعزى الى احتواء المستخلص المائي لأوراق اصبع العذراء على بعض الزيوت الطيارة التي لها تأثير على افراز الثايروكسين في الغدة الدرقية والذي كما هو معلوم يؤثر بصورة مباشرة في عمليات الايض الغذائي (19). اما مقارنة هذه النتائج مع احدث الدراسات في هذا المجال (5,13,14) توصلت الى اوراق اصبع العذراء تحتوي على حامض Ellagic acid الذي يمتاز بفعالية في خفض نسبة كولسترول البروتين الدهني قليل الكثافة (low density lipoprotein chdesterol). وقد يكون تأثير المستخلص مباشرة على خفض شهية اناث الارانب العليقة مما يؤدي ان له تأثير سلبي على الايض الغذائي من خلال تأثيره على افرازات الغدة الدرقية (19).

كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود زيادة معنوية ( $p \leq 0.05$ ) في اوزان الاعضاء التكاثرية (المبايض والارحام) لكلا المجموعتين المعاملة بالمستخلص المائي لنبات *Vitex agnus* مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما لوحظ وجود فروق معنوية ايضا بين المجموعتين الثانية والثالثة في هذه الاوزان تتناسب طرديا مع الزيادة في تركيز المستخلص جدول رقم (2).

جدول رقم (2) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات *Vitex agnus* على وزن الاعضاء التناسلية (المبايض والارحام) لإناث الارانب (المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي)

المجموعة	وزن المبيض (mg)	وزن الرحم (mg)
المجموعة الاولى السيطرة	C* 5.80±5.37	C 4.80± 0.58
المجموعة الثانية 50مل/كغم	B 11.60±0.51	B 6.80 ± 0.58
المجموعة الثالثة 100مل/كغم	A 13.80 ±0.58	A 11.20± 0.73
LSD**	2.20	2.0

\* الحروف المختلفة عموديا تشير الى وجود فرق معنوي، \*\* مستوى المعنوية  $P \leq 0.05$  المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي.

ومن المحتمل ارجاء هذه الزيادة المعنوية الحاصلة في وزن الاعضاء التناسلية الى الزيادة المعنوية التي لوحظت في اعداد الاجسام الصفراء والحويصلات المبيضية نتيجة الافراط الاباضة super ovulation كما هو مبين في الجدول رقم (4) وذلك بسبب الارتفاع المعنوي في تراكيز هرموني LH و FSH في الاناث المجرعة بالمستخلص المائي لأوراق اصبع العذراء جدول رقم (3) وهذا بدوره يسبب زيادة في البطانة الرحمية نتيجة زيادة في عدد وحجم الخلايا الطلائية كما ان تركيز الـ FSH العالي سبب نمو كبيراً في عدد الجريبات الاولى والثانوية في المبايض الذي ادى الى نموها وتكثفها ونضوجها (9). وقد اتفقت الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (11,7).

اشارت الدراسة الحالية وجود فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) في تراكيز الهرمونات ( LH,FSH, Estrogen ) مقارنة مع مجموعة السيطرة، كذلك وجود زيادة معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين هاتين المجموعتين تتناسب طردياً مع الزيادة في التركيز جدول رقم (3).

جدول رقم (3) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات *Vitex agnus* على تراكيز الهرمونات المختلفة في مصل دم اناث الارانب (المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي)

المجموعة	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	Estrogen (pg/ml)	Progesterone (ng/ml)
المجموعة الاولى السيطرة	C 1.95 $\pm$ 0.09 *	C 1.28 $\pm$ 0.15	C 5.06 $\pm$ 0.46	A 2.10 $\pm$ 0.47
المجموعة الثانية 50 مل / كغم	B 2.84 $\pm$ 0.19	B 2.34 $\pm$ 0.15	B 11.96 $\pm$ 0.32	A 2.39 $\pm$ 0.42
المجموعة الثالثة 100مل/كغم	A 3.76 $\pm$ 0.30	A 3.03 $\pm$ 0.31	A 13.75 $\pm$ 0.50	A 2.69 $\pm$ 0.29
** LSD	0.80	0.60	1.70	2.80

\* الحروف المختلفة عموديا تشير الى وجود فرق معنوي، \*\* مستوى المعنوية  $P \leq 0.05$  ، المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي.

يعتقد ان السبب في ذلك هو احتواء مستخلص اوراق نبات اصبع العذراء على تراكيز معينة من الاستروجينات النباتية والكيميومارينات التي تحفز على انتاج الـ FSH و الـ LH. بين (20) من ان المستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء يحتوي على مكونات فعالة بايولوجيا تؤثر في تحفيز اطلاق هرمونات GnRH والتي بدورها تحفز النخامية على افراز FSH و الـ LH المنظمة لإفراز الهرمونات الستيرويدية في المناسل .

ان احتواء المستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء على نسبة عالية من الاستروجينات النباتية phytoestrogens (10,15) يؤدي الى الزيادة المعنوية في تركيز الستيرويدات في الاناث المجرعة مقارنة بالسيطرة كما ان لارتفاع تركيز هرمونات GnRH تأثيرا مباشرا على تصنيع وافراز الاسترجين و البروجسترون من خلال زيادة عدد الجريبات المبيضية وبالتالي الاجسام الصفراء جدول رقم(4). ويعتقد ان للمركز الستيرويدي boar pheromone في المستخلص المائي لأوراق نبات اصبع العذراء تأثير معنوي على تحفيز البروجسترون في اناث الارانب خاصة خلال الطور اللوتيني من دورة الشبق(17).

يبين الجدول رقم (4) نتائج تأثير المستخلص المائي *Vitex agnus* على اعداد واقطار الاجسام الصفراء والجريبات المبيضية بنوعها الاولى والثانوية في مبيض اناث الارانب وكان الارتفاع معنويا ( $p \leq 0.05$ ) مقارنة باناث ارانب مجموعة السيطرة. كما لوحظ وجود فروق معنوية ( $p \leq 0.05$ ) بين المجاميع وكانت تتناسب طرديا مع زيادة التركيز.

جدول رقم (4) تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لنبات *Vitex agnus* على اعداد واقطار كل من الاجسام الصفراء والجريبات المبيضية في مبايض اناث الارانب (المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي).

LSD	100مل/كغم	50مل/كغم	السيطرة	المجموعة	
12.70	A 47.75± 1.25	B 33.75± 1.31	C 21.00± 0.91	عدد	الجسم الاصفر
399.0	A 1282.0±198.0	B 882.7± 42.8	C 454.7± 16.4	قطر (µm)	
68.0	A 213.0± 5.06	B 145.0± 6.45	C 60.25± 2.05	عدد	الجريبات الاولية
4.50	A 541.2± 24.18	B 536.7± 14.51	B 194.0± 3.18	قطر (µm)	
25.50	A 139.2± 3.25	B 113.7± 5.54	C 28.75± 1.31	عدد	الجريبات الثانوية
184.70	A 1048.7±29.63	B 864.0± 51.13	C 513.7± 6.30	قطر (µm)	

\* الحروف المختلفة عموديا تشير الى وجود فرق معنوي، \*\* مستوى المعنوية  $P \leq 0.05$  ، المعدلات  $\pm$  الخطأ القياسي.

يلاحظ من الجدول رقم (3) زيادة معنوية في اعداد الجريبات المبيضية والاجسام الصفراء وكذلك الزيادة في اوزان الاعضاء التنكاثرية جدول رقم (2). ولقد انعكست هذه الزيادة في الاعضاء اعلاه في الارتفاع المعنوي لمستوى تراكيز الهرمونات الستيرويدية (الاستروجين والبروجسترون) في الاناث المعاملة بالمستخلصات جدول رقم (3). ان هذا الاستنتاج يوضح لنا الارتباط الوظيفي والذي يعبر عنه محور تحت المهاد-النخامية- المناسل (hypothalamus-petuitery. Gonad axis) جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما توصل اليه (6). وقد تكون الزيادة لفاعلية الاستروجين والبروجسترون في تحفيز بناء البروتين والدهون عن طريق تأثيرها المباشر في نظام الرنين - الانجيوتنسين(16).

نستخلص من النتائج التي افترتها الدراسة الحالية تأكيدا لمدى اهمية المحور تحت المهاد-النخامية-التناسل الذي انعكس ايجابيا على اعداد واقطار الاجسام الصفراء والجريبات المبيضية. فان المستخلص المائي اصبح العذراء تأثيرا ايجابيا على الخصوبة بصورة عامة على اناث الارانب.

المصادر:

1. التميمي، جبار حسن(2010). العلاج بأشجار وشجيرات الفاكهة والغابات، شركة دار الحوراء، بغداد.
2. الحاج، توفيق يحيى (2003). النبات والطب البديل، الطبعة الاولى، الدار العربية للعلوم، بيروت، لبنان.
3. AL-Rawi, K. (2000). Entrances to the statistics .second edition. Faculty of Agriculture and forestry, University of Mosul/Iraq.
4. Bachrach ZY.( 2012). Contribution of Selected Medicinal Plants for Cancer Prevention and Therapy. *Sci J Fac Med.*, 29(3) PP: 117-123.
5. Chang. R.l.; newmark. M.t.; yagi, h.l.; sayer j.m.; jerina, d.m. and conney, a.j. (2004). Effects of ellagic acid and hydroxylated.
6. Claus, r.h. (1979) . The steroid 5-a-androst-6-en-3-one, known as aboar pheromone, was identified (pastinaca sativa) and celery (apium graveolens). *Endocrinology*, 22(10): 500-505.
7. Diab, A.A.; Elsayed,Z.I.; Zahra,M.H.; Shalaby,A.A.; Mohamed,E.F.(2015). Biological study of the extract of some species of *vitex agnus-castus* (kafmurium ) grown in Egypt. *IJPSR*. VOI 6 No 02, PP 227-233.
8. Elshaer, S.S.; Anwar, H.M. and Zohni, M.S.(2015). Hormonal profile amelioration by the mixture of *Vitex agnus castus* and metformin on polycystic ovary remedy. Volume 4, Issue 7, 39-51.
9. Ganong, w.f.(1989). review of medical physiology. Lmp. Lange medical publication, Los Altos, California.
10. Feinstein and lavendustin a on progesterone synthesis in cultured ovarian cells of th rat-fertil steril, 73: 613-619.
11. Hasan, H.F.; Qaragholi, Z.M.; Luaibi, O.K. and Abdull-Wahed, N.A. (2014). Effect of alcoholic extract of *Vitex agnus* seed on some function of female reproductive system. *I.J.S.N.*, VOL.5 (2)pp: 254-257.
12. Horborn, j.b (1984). Phytochemical ranethods. 2<sup>nd</sup>ed (ed.) chapman and hall. P. 288.



13. mukhtar, h., das, m.d. and bickers, R. (2004). Inhibition of methyl choline three induced skin tumorigenic in baib/c mice by chronic oral feeding of trace amounts of ellagic acid in drinking water cancer res., 46: 2245-2265.
14. Mukhtar, h.; das, b.j.; del tito. (2006). Protection against 3-methylchoanthrene induced skin tumorigenesis in balb/c mice by ellagic acid biochem. Biophys. Res. Commun// 9: 761-757.
15. Nagel, s.c. (1998). The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum pharmacological and structureactivity relationships. Progress in clinical and biological research, a.r. liss, ny. Vol. 213, pp15-24.
16. Rhoades, r. & pflanzer, r.(1989). Human physiology saunders college publishing. Tokyo: pp.900.
17. Richard, m.; Harrison,; patricia, p.; phillippi; Kenneth, f. swan and Michael c. Henson.( 1999). Effect of genistein on steroid hormone production in the pregnant rhesus monkey. The society for experimental biology and medicine 222: 78-84.
18. Taylor, v.e, brady, l.r.and robbers, j.e.(1988). Pharmacognosy. 3<sup>rd</sup>ed. Lea and fobiger. Philadelphia. P.175.
19. Tsi, d.(1997). Effects of aqueous celery (apium graueolens) extract on lipid parameters of rat fed a high fat diet planta med., 61: 18-21.
20. Whitehead. S.a. & lacey, m. (2000). Protein tyrosine kinase activity of the phytoestrogen measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifiers estrogenic activity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 217: 300-309.