مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 21 (5) 2016
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم (*Vitex agnus castus*) على هرمونات الجهاز التكاثري الأنثوي للأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

منيف صعب احمد الجنابي[1] ، موسى محمد جاسم الحميش[2] ، بسام ضياء جاسم السامرائي[1]

[1]قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2]جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

الملخص

نظراً للاستخدام الواسع لنبات كف مريم في معالجة مشاكل الدورة الشهرية وكمنظم للهرمونات الجنسية, اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم بالمقارنة مع فيتامينE على الهرمونات الجنسية في اناث الأرانب البيض المعرضة لبيروكسيد الهيدروجين (0.5%) لمدَّة (30) يوماً وكانت الأرانب بعمر (6–8) اشهر وبأوزان (1300–1700) غراماً, وقسمت عشوائياً إلى (10) مجاميع بواقع (5) أرانب لكل مجموعة وكما يلي: (1) مجموعة السيطرة السليمة استهلكت ماء الشرب الاعتيادي والغذاء القياسي, (2) مجموعة السيطرة المصابة استهلكت H_2O_2 مع ماء الشرب وغذاء, (3) المستخلص بتركيز (50ملغم/كغم), (4) المستخلص (50ملغم/كغم) + H_2O_2, (5) المستخلص (50ملغم/كغم) + فيتامينE, (6) المستخلص (50ملغم/كغم) + فيتامينE + H_2O_2, (7) فيتامينE, (8) المستخلص (100ملغم/كغم), (9) المستخلص (100ملغم/كغم) + H_2O_2, (10) المستخلص (100ملغم/كغم) + فيتامينE + H_2O_2. تم تقدير تراكيز الهرمونات الجنسية لغرض معرفة تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم على وظائف وكفاءة الجهاز التناسلي لإناث الأرانب. اظهرت نتائج الدراسة أن اعطاء الحيوانات H2O2 مع ماء الشرب أدى إلى انخفاض معنوي في تراكيز الهرمونات FSH,LH,Estrogen,Progestron, بينما اظهرت ارتفاع معنوي في تركيز هرمون Prolactin بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة. كما اظهرت ارتفاع معنوي في تركيز هرمون البروجسترون بالجرعة (50ملغم/كغم) + فيتامينE عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السليمة, كما بينت ايضاً حدوث انخفاض معنوي في تركيز هرمون LH لدى جميع المجاميع مقارنة بمجموعة السيطرة السليمة, كما أظهرت انخفاض معنوي في تركيز هرمون FSH في كافة المجاميع بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة بإستثناء مجموعة الجرعة (50ملغم/كغم) + فيتامينE ومجموعة فيتامينE فقط التي اظهرت ارتفاع معنوي ($P<0.01$), بينما انخفض تركيز هرمون البرولاكتين في كافة المجاميع مقارنة مع مجموعتي السيطرة السليمة والمصابة. وبذلك نستنتج بأن لنبات كف مريم دوراً مهماً في الخصوبة وتثبيط افراز هرمون البرولاكتين المسبب الرئيسي لإصابة المرأة بالعقم.

الكلمات الدالة: نبات كف مريم, المستخلصات النباتية لـ *Vitex agnus castus*, الهرمونات الجنسية. اناث الأرانب.

المقدمة

ركز الكثير من الباحثين على استخدام العقاقير النباتية لما لها من قدرة علاجية أكبر من تلك التي تملكها الأدوية المصنعة في معالجة بعض الأمراض, إذ تظهر هذه العقاقير النباتية النشاط البايلوجي في خارج *In Vitro* وداخل *In Vivo* جسم الكائن الحي, ومن العوامل التي أدت إلى تنامي استخدام النباتات الطبية والمنتجات الطبيعية الأخرى ظهور أمراض جديدة مصحوبة بتعقيدات شديدة لم يتم إيجاد علاج مناسب لها حتى الآن [1]. ومن تلك النباتات ذات الأهمية الطبية نبات كف مريم الذي هو عبارة عن شجيرة عطرية, متساقطة الأوراق, يصل ارتفاعها (3.4-3.7 متر), تزهر في فصل الصيف [2]. أوراقه كاليد المفتوحة عددها من 5-7 وريقات غير متساوية تشبه الأصابع ذات لون أخضر غامق [3]. تمتاز أوراق كف مريم بأنّ لها رائحة عطرية غير نافذة, ذات طعم لاذع وبها مرارة [4]. موطنها الاصلي منطقة البحر الابيض المتوسط و ضفاف الأنهار في جنوب أوربا و المناطق المعتدلة كما إنها تنمو في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية [5]. وفي العراق فإنها تنمو في المناطق الشمالية والوسط كأربيل والسليمانية وكركوك والموصل وخانقين وبغداد [6]. أن أهم المركبات الفعالة في هذه النبتة هي المركبات الفلافونيدية Flavonid والتي منها المادة الكاستيسين Casticin والذي أعتبر كبديل للهرمونات الأنثوية, إذ تم دراسة تأثيره المحفز لإنتاج ورفع مستوى كل من هرموني البروجسترون والاستروجين من خلال الدراسة التي أجريت على إناث الفئران منزوعة المبايض [7]. كما أظهرت بعض الدراسات أن مستخلصات نبات كف مريم له تأثير تنظيمي على مستوى هرمون (LH) Luteinizing Hormone وهرمون Follicle Stimulation Hormone(FSH) التي تفرزها الغدة النخامية في النساء [8]. ويعمل كذلك في علاج ارتفاع نسبة هرمون البرولاكتين والتخفيف من ألم الثدي [9]. أمّا [10] فقد ذكر أنَّ نبات كف مريم يستخدم لمعالجة العديد من الحالات التي تصيب النساء مثل الاضطرابات الحاصلة في الفترة ما قبل فترة الحيض والجسم الأصفر. وفي الدراسة التي اجراها [11] على الفعالية البايلوجية لبعض مستخلصات نبات كف مريم (*Vitex agnus castus*) أظهرت النتائج بأن المستخلص الكحولي له تأثير واضح على وجود نشاط جريبي على المبيض مع تضخم المبيض. وعليه فقد هدفت دراستنا إلى : معرفة التأثير العلاجي للمستخلص المائي لنبات كف مريم على تركيز بعض الهرمونات الجنسية الأنثوية للأرانب المعرضة للإجهاد التأكسدي بالمقارنة مع فيتامين E.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

المواد وطرائق العمل

1- جمع اوراق النبات:

جمعت أوراق نبات كف مريم من المشاتل المحلية في مدينة بغداد, وجرى تشخيص النبات في معشب (قسم علوم الحياة/كلية العلوم- جامعة بغداد). ومن ثم أخذت الأوراق وعرضت للهواء النقي بعيدا عن أشعة الشمس بعد تنظيفها من التراب وما علق بها من أوساخ حتى جفت وتم طحنها وحفظت في علب بلاستيكيه شفافة محكمة الغلق في ظروف خالية من الرطوبة إلى حين بدء تحضير المستخلص.

2- الحيوانات المستخدمة:

استخدمت في هذه الدراسة 50 انثى من الأرانب البيض albino females rabbits تراوحت أعمارها بين (6-8) اشهر ومعدل أوزانها من (1300-1700) غم. تم الحصول عليها من البيت الحيواني لدائرة الرقابة الدوائية- بغداد، وقد اجريت هذه الدراسة للمدَّة من بداية ايار ولغاية حزيران لسنة 2015 في البيت الحيواني التابع لقسم الفارماكولوجي- شعبة السيطرة النوعية -الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية- سامراء. وضعت الحيوانات في أقفاص حديدية مغطاة بأغطية معدنية, ذات ارضية مفروشة بنشارة الخشب, وتم تنظيف وتعقيم الأقفاص خلال مدَّة التجربة.

3- تحضير المستخلص :

وزن 50 ملغم/كغم من أوراق نبات كف مريم المطحونة بواسطة الميزان الحساس ومزجت مع الماء المقطر المغلي(5 مل) وترك للتنقيع لمدة (10) دقائق بعدها قمنا بترشيح المنقوع بواسطة ورقة الترشيح رقم واحد (Whatman No.1) لفصل العوالق الكبيرة , بعدها ركز المحلول باستخدام بخار الماء لمدة (20) دقيقة, وبذلك تم الحصول على المستخلص المائي الخام, ثم حفظ المستخلص بالتجميد في قناني زجاجية ذات أغطية محكمة وفي ظروف خالية من الرطوبة لحين استخدامه في الدراسة [12]. واتبعت نفس الطريقة السابقة في تحضير وزن 100ملغم/كغم من أوراق نبات كف مريم والتي تعد الجرعة الثانية.

4- تحضير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2:

استخدم بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 50% المجهز من شركة (AAG-Barcelona, Espana) وتم تخفيفه بوساطة ماء الشرب الاعتيادي إلى تركيز 0.5% وتم تحضير المحلول يومياً وإعطاؤه لحيوانات التجربة مع ماء الشرب طيلة مدَّة التجربة البالغة 30 يوماً.

5-تقدير وتشخيص المواد الفعالة :

تم استخدام تقنية الـ HPLC (كروموتوغرافيا السائل السريعة) في فصل وتقدير تركيز الكاستسينCasticin والايزوفتكسين Isovitexin حسب طريقة [13]. أخذ وزن (10ملغم) من المستخلص المائي ومزج مع (5 مل) من محلول مكون من الايثانول والماء (80:20 v/v) ووضع في أنبوبة زجاجية ونقل إلى جهاز الموجات الصوتية من نوع (Branson sonifier , USA) لمدة (25) دقيقة وبدرجة حرارة (25) درجة مئوية. تم فصل المحلول الرائق باستخدام الطرد المركزي (7500) دورة لمدة (15) دقيقة. تم استخدام النتروجين بإمراره على المحلول الرائق لكل عينه لغرض تقليل الحجم إلى (1مل) وتم ترشيح كل محلول باستخدام ورق ترشيح (2.5 µm) وخزن كل نموذج عند درجه حرارة (4) درجة مئوية لحين إجراء بقية الفحوص عليها, وتم أخذ (20µl) من كل نموذج وحقن في جهاز HPLC ووفقاً للظروف المثبتة .

تم إيجاد تركيز المركبات قيد الدراسة حسب المعادلة التالية :

$$\text{تركيز النموذج } (\mu g/ml) = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج}}{\text{مساحة حزمة المركب القياسي}} \times \text{تركيز المركب القياسي} \times \text{عامل التخفيف}$$

6- تحديد الجرعة الفعالة :

تمثل هذه دراسة أولية Pilot study لتحديد الجرعة الأكثر تأثيراً والأمثل للمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم المخفض لسكر الكلوكوز في الدم، إذ تم تقسيم الحيوانات السليمة بشكل عشوائي إلى **(6) مجاميع تضم كل مجموعة (3) حيوانات، ووزعت كما يأتي :**

المجموعة الأولى: (مجموعة السيطرة) : تم اعطائها ماء الشرب فقط.

المجموعة الثانية: تم تجريعها فمويا بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 50 ملغم/كغم من وزن الجسم.

المجموعة الثالثة: تم تجريعها فمويا بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 100 ملغم /كغم من وزن الجسم.

المجموعة الرابعة: تم تجريعها فمويا بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 200 ملغم /كغم من وزن الجسم.

المجموعة الخامسة: تم تجريعها فمويا بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 400 ملغم/كغم من وزن الجسم.

المجموعة السادسة: تم تجريعها فمويا بالمستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم بتركيز 500 ملغم/كغم من وزن الجسم.

وبعد ثلاث ساعات من التجريع لكل حيوان تم سحب عينات الدم عن طريق الوريد الأذني باستخدام مادة الزايلين لأجل زيادة تدفق الدم إلى الوريد الأذني إذ تعمل هذه المادة على احتقان وقتي في المنطقة المدهون بها [14] وقياس تركيز الكلوكوز, وعلى ضوء ذلك تم اختيار الجرعة الفعالة من نبات كف مريم (*Vitex agnus-castus*) وكانت 50ملغم/كغم من وزن الجسم.

تصميم التجربة:

قسمت الحيوانات عشوائياً إلى (10) مجاميع ضمت كل مجموعة (5) حيوانات وبأوزان متقاربة وتم توزيعها كالآتي:

المجموعة الاولى: أعطيت الغذاء وماء الشرب الاعتيادي وعدت مجموعة سيطرة (سليمة).

المجموعة الثانية: أعطيت بيروكسيد الهيدروجين(0.5%) مع ماء الشرب وغذاء وعدت مجموعة سيطرة (مصابة).

المجموعة الثالثة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 50ملغم/كغم وغذاء وماء شرب.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

المجموعة الرابعة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 50ملغم/كغم مع H_2O_2 وغذاء.

المجموعة الخامسة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 50ملغم/كغم مع فيتامين E وغذاء وماء شرب.

المجموعة السادسة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 50ملغم/كغم مع فيتامين E و H_2O_2 وغذاء.

المجموعة السابعة: أعطيت فيتامين E بتركيز (500ملغم/كغم) فقط وغذاء وماء شرب.

المجموعة الثامنة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 100ملغم/كغم وغذاء وماء شرب.

المجموعة التاسعة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 100ملغم/كغم مع H_2O_2 وغذاء.

المجموعة العاشرة: أعطيت مستخلص نبات كف مريم بتركيز 100ملغم/كغم مع فيتامين E و H_2O_2 وغذاء.

جمع عينات الدم:

بعد انتهاء المدَّة المحددة للتجربة (30) يوماً, جوعت الحيوانات لمدة (12) ساعة وخدرت بوساطة الايثر لعدة دقائق, ثم شرحت وسحبت عينات الدم من القلب مباشرة بوساطة الطعنة القلبية Heart puncture باستعمال محقنه طبية تستعمل لمرة واحدة, إذ تم سحب ما يقارب (8-10) مل من الدم, تم تفريغها في انابيب اختبار Test Tubes نظيفة وجافة (تستعمل لمرة واحدة) خالية من المواد المانعة للتخثر تركت لمدة ربع ساعة تقريبا بدرجة حرارة الغرفة (25) درجة مئوية, بعدها فصل المصل بوساطة عملية الطرد المركزي للعينات بقوة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة وتم تقسيم المصل إلى اجزاء في انابيب صغيرة Eppendorf tube وحفظ المصل بدرجة (-20) درجة مئوية لحين إجراء الاختبارات الهرمونية.

الاختبارات الهرمونية:

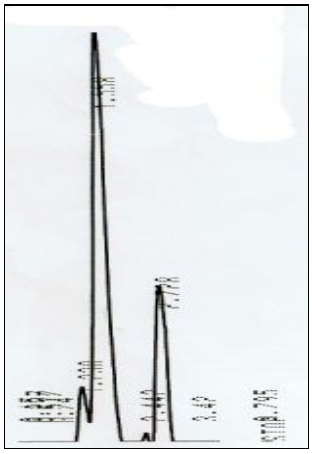
تم تقدير مستوى كل من هرمون البروجستيرون Progesteron, وهرمون الاستروجين Estrogen, وهرمون LH, وهرمون FSH, وهرمون البرولاكتين Prolactin, في مصل دم اناث الأرانب التابعة لمجاميع المعاملات في مختبرات مستشفى سامراء العام إذ استخدمت عدة الفحص الجاهزة Kit من انتاج شركة (Monobind-U.S.A) وباستخدام تقنية الإليزا ELISA عند الطول الموجي 450 نانوميتر خلال 15 دقيقة, واستخدام جهاز الإليزا المصنع من قبل شركة (Bio Tek ELx800 bioelisa reader) الامريكية.

التحليل الاحصائي:

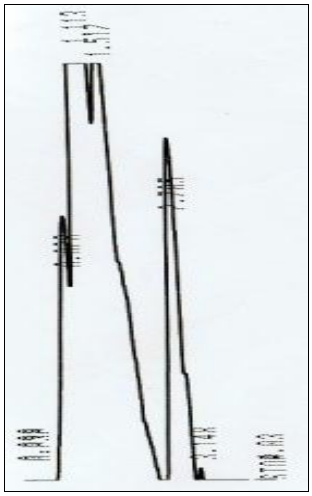
حللت النتائج إحصائياً وباستخدام برنامج SAS (2001) ووفق تحليل التباين باتجاه واحد واختبرت المتوسطات الحسابية للمعاملات باستخدام اختبار دانكن متعدد الحدود وعدت النتائج معنوية عند مستوى احتمالية ($P<0.01$) [15].

النتائج والمناقشة

يوضح الشكل (1) تركيز المادة الفعالة للـ Cacticin في المستخلص المائي لنبات كف مريم, في حين يوضح الشكل (2) تركيز المادة الفعالة للـ Isovitexin في المستخلص المائي لنبات كف مريم.



شكل (1) يوضح تحليل HPLC من الـCastisin المعزول من المستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم



شكل(2) يوضح تحليل HPLC من الـ Isovitexin المعزول من المستخلص المائي لأوراق نبات كف مريم

كما يوضح الجدول (1) زمن ومنطقة احتجاز المادة الفعالة للـ Casticin في المستخلص المائي لنبات كف مريم, في حين يوضح الجدول (2) زمن ومنطقة احتجاز المادة الفعالة للـ Isovitexin في المستخلص المائي لنبات كف مريم.

الجدول(1) يوضح زمن ومنطقة الاحتجاز للمادة الفعالة الـ Casticin في المستخلص المائي لأوراق نبات *Vitex agnus-castus*

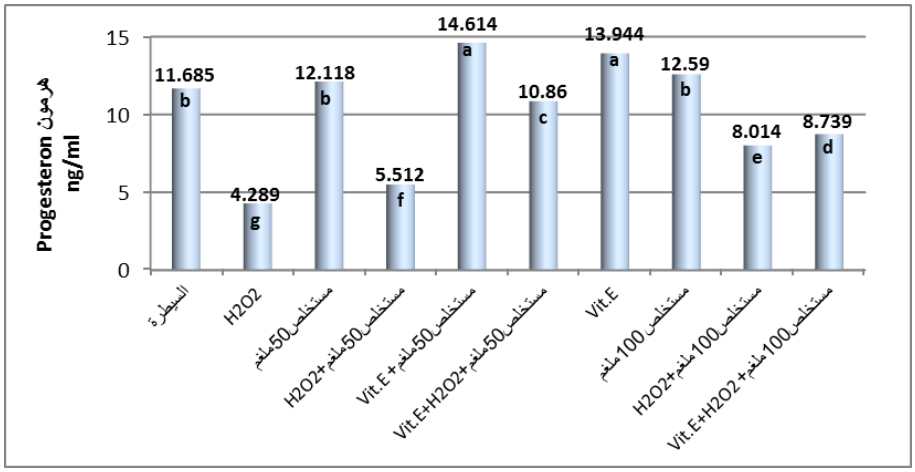
Peak	Retention (min.)	Area	Identified compounds	Conc. (µg/g)
1	1.238	28334	Unknown	19.8515
2	1.558	69857	Isovitexin	48.9437
3	2.442	13227	Unknown	9.2669
4	2.728	31312	Casticin	21.9379

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

الجدول (2) يوضح زمن ومنطقة الاحتجاز للمادة الفعالة الـ Isovitexin في المستخلص المائي لأوراق نبات *Vitex agnus-castus*

Peak	Retention (min.)	Area	Identified compounds	Conc. (µg/g)
1	0.828	30833	Unknown	8.7178
2	1.113	145593	Unknown	41.1659
3	1.517	109843	Isovitexin	31.0578
4	2.705	51778	Casticin	14.6402
5	3.148	15626	Unknown	4.4183

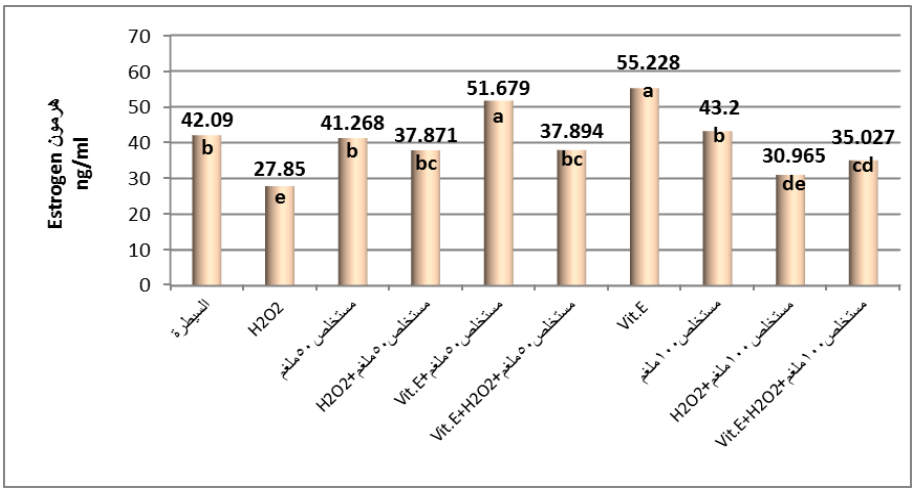
تبين نتائج الشكل (3) حصول انخفاض معنوي (P<0.01) في تركيز هرمون البروجستيرون لإناث الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السلمية, وقد يعود السبب إلى ارتفاع تركيز هرمون البرولاكتين في هذه المجموعة والموضح في الشكل (7) والذي أدى إلى اضطراب في مستوى تركيز هرمون البروجستيرون [16]. كما أظهرت نتائج المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعتين (100,50ملغم/كغم) ارتفاعاً معنوياً في تركيز هرمون البروجستيرون بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة, بالإضافة إلى مجاميع الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع نبات كف مريم بالجرعتين (100,50ملغم/كغم من وزن الجسم) و فيتامين E بتركيز (500ملغم/كغم من وزن الجسم), هذه النتائج اتفقت مع [17] في الدراسة التي أجراها حول تأثير المستخلص لنبات كف مريم على إناث الجرذان والتي بينت زيادة في مستوى هرمون البروجستيرون, وقد يعزى السبب إلى قدرة نبات كف مريم الحاوي على الفلافونويدات مثل الـ Casticin على تحفيز الجينات المسؤولة عن تصنيع هذا الهرمون والذي أدى إلى زيادة مستوى تركيزه في مصل الدم كذلك لها القدرة على ازالة النقص في البروجستيرون الاصفري [19,18], كما يعمل فيتامين E دوراً مهماً في المحافظة على الجينات المسؤولة عن صناعة الهرمونات المحفزة للمبايض من خلال حمايتها من عمليات الأكسدة والتي يرافقها زيادة هرموني البروجستيرون والاستروجين [20].



شكل (3) تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم و فيتامين E على فعالية هرمون البروجستيرون في اناث الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

*الأحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P<0.01).

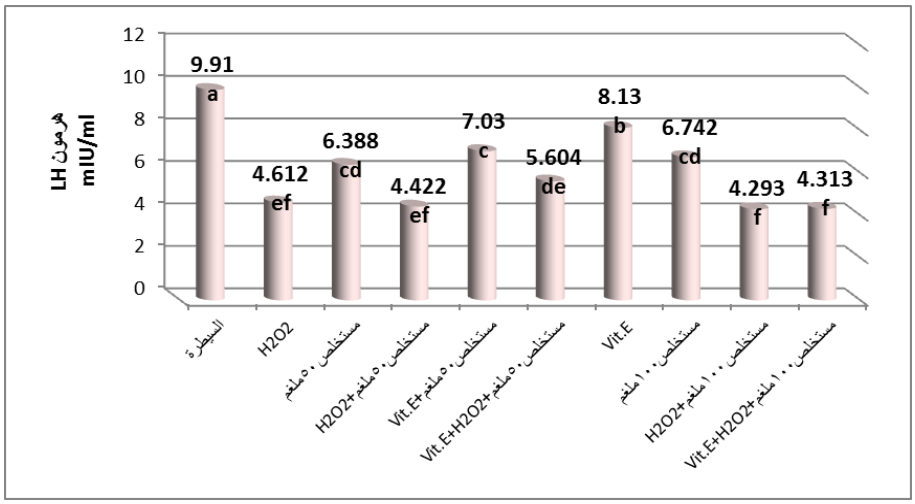
أمّا الشكل رقم (4) فانه يشير إلى حدوث انخفاض غير معنوي في تركيز هرمون الاستروجين في مجموعة المعاملة بالجرعة (50ملغم/كغم من وزن الجسم) من المستخلص المائي لنبات كف مريم مقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة, في حين أظهرت نتائج مجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعة (100ملغم/كغم من وزن الجسم) حدوث ارتفاع غير معنوي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السليمة, وهذا يتفق مع ما توصل اليه [21] التي أظهرت أن المستخلص الكحولي لنبات كف مريم ادى إلى ارتفاع في مستويات هرمون الاستروجين و البروجستيرون. وقد يعزى سبب الارتفاع إلى الفلافونويد apigenin الذي تم عزله من نبات كف مريم والذي له تأثير نشط على الجينات المسؤولة عن صناعة الاستروجين مما ادى إلى ارتفاع مستوى تركيز الهرمون في مصل الدم [22]. كما أظهرت نتائج مجاميع الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع نبات كف مريم بالجرعتين (100,50ملغم/كغم من وزن الجسم) و فيتامين E بتركيز (500ملغم/كغم من وزن الجسم) حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في تركيز هرمون الاستروجين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة المصابة, . قد يعزى السبب إلى دور بعض الفلافونويدات التي يمتلكها نبات كف مريم والتي أظهرت دور كمضاد للأكسدة في كسح الجذور الحرة الناتجة من الإجهاد التأكسدي [23], وقد يعود سبب الارتفاع في تركيز هرمون الاستروجين أيضا إلى نشاط فيتامين E الذي وصفه [24] كونه أحد مضادات الأكسدة والذي يمكن أن يحسن تدفق الدم إلى الخلايا الحبيبية خلال الحويصلات المبيضية النامية وبالتالي يدعم انتاج هرمون الاستروجين.



شكل (4) تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم و فيتامين E على فعالية هرمون الاستروجين في اناث الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

*الأحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P<0.01)

أمّا الشكل (5) فأنه يشير إلى حدوث انخفاض معنوي (P<0.01) في تركيز LH لدى جميع المجاميع المدروسة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة, جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما توصل اليه [21] والتي اشار فيها إلى حدوث انخفاض في تركيز هرمون LH وارتفاع هرموني البروجستيرون والاستروجين في اناث الفئران المعاملة بالمستخلص الكحولي لنبات كف مريم, كما اتفقت ايضاً مع دراسة [26,25] حول تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم على ذكور الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين والتي أشارت إلى انخفاض معنوي في مستوى هرمون LH, وقد يعزى السبب في الانخفاض إلى ارتفاع مستويات هرموني البروجستيرون والاستروجين من خلال الية التغذية الراجعة السالبة [27].

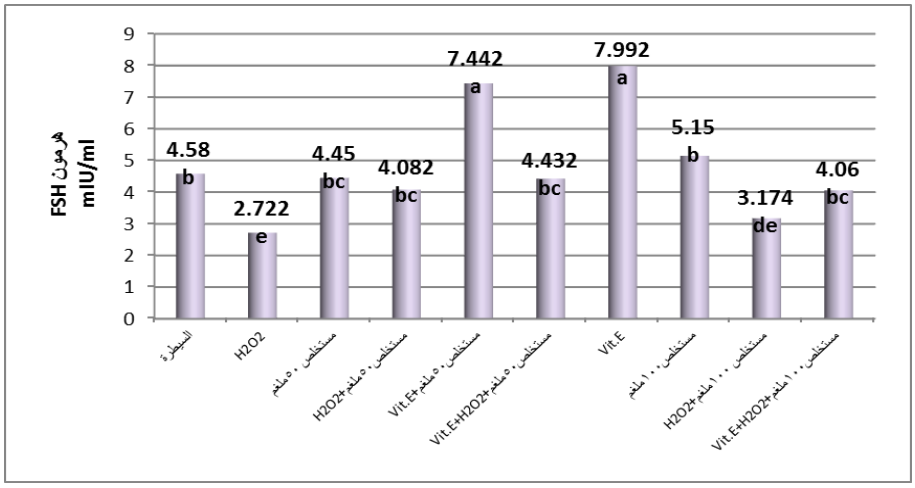


شكل (5) تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم و فيتامين E على فعالية هرمون LH في اناث الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

*الأحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P<0.01).

كما أظهرت نتائج الشكل (6) حدوث انخفاض معنوي في تركيز هرمون FSH للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعة (50 ملغم/كغم من وزن الجسم) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة السليمة, وقد أوضح [28] الآلية التي قد يعمل بها نبات كف مريم من خلال المنظومة الأفيونية التي تتألف من المستقبلات الأفيونية (μ, δ, k) و ببتايدات افيونية داخلية المنشأ مثل B-endorphin, إذ يساعد هذا الببتايد في تنظيم الدورة الحيضية من خلال منع نشاط محور تحت المهاد – النخامية – الغدة الكظرية Hypothalamus-pituitary-adrenal axis (HPA), وبذلك يقلل كمية اطلاق هرمون محفز الغدة التناسلية GnRH المفرز من الغدة النخامية, والتي تقلل اطلاق هرمون FSH و هرمون LH وكذلك الهرمونين معاً, والتي تفرزهما الغدة النخامية, إذ تدخل هذه الهرمونات في حلقة معقدة للتغذية الراجعة مع هرموني البروجستيرون والاستروجين لتنظيم الدورة الحيضية. وقد يعزى السبب إلى احتواء

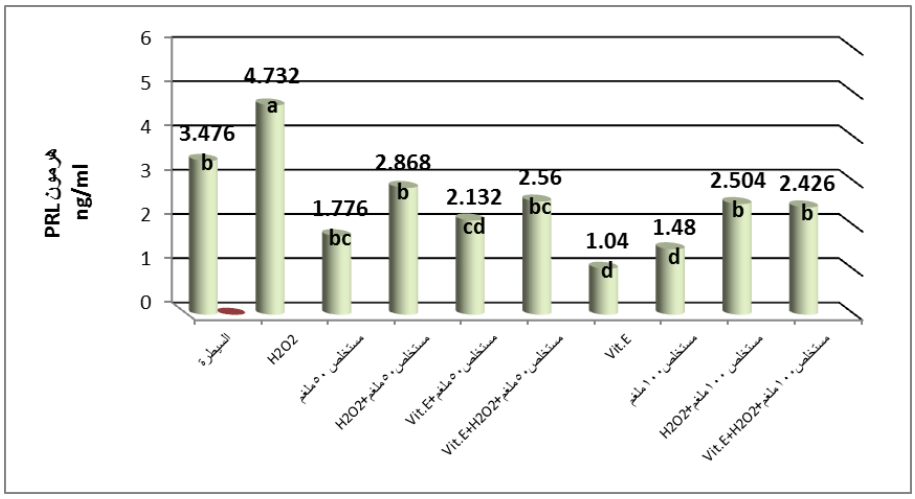
نبات كف مريم على عناصر نباتية كيميائية مثل الفلافونويدات التي تقلل تركيز FSH [29]. بينما أظهرت الجرعة (100 ملغم/كغم من وزن الجسم) فقط ارتفاع غير معنوي في تركيز الهرمون المحفز لنمو الجريبات FSH بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة. وقد يعزى سبب الارتفاع إلى الزيادة الحاصلة في تركيز هرمون الاستروجين لهذه المجموعة والذي عمل على توليد اعداد متزايدة من مستقبلات FSH بتأثيره على الخلايا المحببة مما يؤدي إلى زيادة افراز هرمون FSH [30]. أمّا المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم (50ملغم/كغم من وزن الجسم) مع فيتامين E وكذلك المجموعة المعاملة بفيتامين E فقط فقد أشارت النتائج إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) عند مقارنتها مع مجموعتي السيطرة السليمة والسيطرة المصابة, وقد يعود السبب إلى الدور الهام والفعال لفيتامين E في زيادة أنتاج هرمون FSH من خلال تأثيره على تنشيط محور النخامية – الغدد التناسلية Pituitary - gonadal axis لدى البشر والفئران [31].



شكل (6) تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم و فيتامين E على فعالية هرمون FSH في اناث الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

*الأحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($P<0.01$).

أمّا الشكل (7) فقد أظهر إن المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعتين (100,50 ملغم/كغم من وزن الجسم) فقط حدوث انخفاض معنوي بمستوى احتمالية ($P<0.01$) في تركيز هرمون البرولاكتين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة, بالإضافة إلى مجاميع الحيوانات المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع نبات كف مريم بالجرعتين (100,50ملغم/كغم من وزن الجسم) وفيتامينE بتركيز (500ملغم/كغم من وزن الجسم), وقد يعزى السبب في انخفاض تركيز هرمون البرولاكتين إلى دور الفلافونويدات مثل الـ Casticin التي تمتلكها اوراق نبات كف مريم والذي له دور رئيسي في تثبيط اطلاق البرولاكتين عن طريق تنشيط مستقبلات الناقل العصبي الدوبامين [32]. كما اوضحت النتائج حدوث ارتفاع عالي المعنوية في تركيز هرمون البرولاكتين في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5%) فقط, وقد يعزى سبب ارتفاع هرمون البرولاكتين إلى نقص هرمون الاستروجين الذي يؤدي إلى تثبيط انتاج هرمون مثبط الحليب Prolactin Inhibiting Hormone من تحت المهاد مما يؤدي إلى تحفيز انتاج هرمون الحليب من الغدة النخامية [33]. أمّا المجموعة المعاملة بفيتامين E بتركيز (500 ملغم/كغم من وزن الجسم) فقط أظهرت انخفاض عالي المعنوية ($P<0.01$) في تركيز هرمون البرولاكتين عند مقارنته مع مجموعتي السيطرة السليمة و السيطرة المصابة, وقد يعزى السبب إلى الدور المهم لفيتامين E كمضاد للأكسدة كما له الدور في تعزيز إطلاق الناقل العصبي الدوبامين بكميات كبيرة مما يؤدي إلى تثبيط افراز هرمون البرولاكتين [34]. من خلال هذه الدراسة نستنتج ان للمستخلص المائي لنبات كف مريم تأثيراً ايجابياً في تنظيم مستويات الهرمونات الجنسية, كما اظهرت الدراسة ايضاً دور المستخلص المائي لنبات كف مريم بالجرعتين (100,50ملغم/كغم) في تثبيط افراز هرمون البرولاكتين المسبب الرئيسي لإصابة المرأة بالعقم وعدم الخصوبة .



شكل (7) تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم و فيتامين E على فعالية هرمون البرولاكتين في اناث الأرانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي

*الأحرف المختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P<0.01).

المصادر

1- Agarwal, V; Lal, P. and Pruthi, V. (2012).Effect of plant oils on Candida albicans. J Microbiol Immunol Infect. 43:447-451 .

2- Islam, MD.S., Akhtar, M.M., Parvez, MD.S., Alam, MD. S., Alam, M. F. (2013). Antitumar and antibacterial activity Acrude methanol leaf Extroct of *Vitex negundo*. Arch. Biol. Sci., Belgrade. 65(1). pp:229-238.

3- Townsend, C. C. and Guest, E. (1980). Flora of Iraq . Ministry of agriculture Republic of Iraq vol. 4.

4- Azarnia, M; Ejtemaei, S; Shakoora, A. and Ansari, A. (2007). Effect of *Vitex agnus-castus* on mice fetus development. Acta mediea Journal. 45(4): 264.

5- Mabberley, D. J.(2008). Mabberleys' *Plant-Book* 3rd edition 2008 Cambridge University Press: UK.

6- Al-Rawi, A.(1988). Wild plants of Iraq (3rd ed.).Ministry of Agriculture and Irrigation, Repuplic of Iraq, Baghdad.pp:6, 149.

7- Ibrahim, N.A; Shalaby, A.S; Farag, R.S; Elbaroty, G.S; Nofal, S. and Hassan, E.M. (2007). Phytochemical Investigation and Hormonal Activity of *Vitex agnus-castus* Fruits growing in Egypt. Faculty of Agric., Cairo Univ., Egypt.

8- Burch, E.(1999). *Vitex Agnus castus* ,www @herbcraft.com.(cited by, Nasri 2004).

9- Khare, C. P. (2004). Indian medicinal plants, an illustrated dictionary. 2nd edition. Springer publishers. pp: 709-711.

10-Tareen, RB; Bibi, T; Kahn, MA; Ahmad, M. and Zafar, M.(2010). Indigenous Knowledge of Folk Medicin by the Women of Kalat and Khuzdar Regions of Balochistan, Pakistan, Pakistan Journal of Botany 42(3):1465-1485.

11-جياد, جمال سلمان و جواد, اطلال نايف و عبدالحميد, حنان رشيد و كامل, عبير فائق و عبدالله, جاسم محمد. (2015). دراسة الفعالية البايولوجية لبعض مستخلصات نبات كف مريم (*Vitex agnus castus L.*) . المجلة العراقية للعلوم, المجلد(56) , العدد (اب): 397-406.

12-السعدون، محمد بحري حسن عبد.(2005) عزل عدد من المركبات من بذور نبات الكرفس *Apium graveolens* ودراسة تأثيرها في الفئران المعرضة للكرب التأكسدي. أطروحة دكتوراه، كلية التربية- جامعة الموصل.

13- Milosavljevic, S; Tesevic, V; Vuckovic, I; Jadranin, M; Vajs, V; Sokovic, M; Janackovic, P. and Jovanovic, A. (2007). "Composition and antifungal activity of the essential oil of *Seseli annuum* wild-growing in Serbia". Fitoterapia. 78, 319-322.

14- Gidado, A; Amed, D. A. and Atawodi, S. E. (2005). Effect of Nauclea latitolia leaves aqueous extracts on blood glucose levels of normal and alloxan-induced diabetic rats. Atri. J. of. Bio technology. 4(1): 91-93.

15- Duncan, D.B.(1955). Multiple range and F-test. Biomertic. 11:42.

16- Dewey, K.G.(2001). Nutrition Growth and Complementary Feeding of the Breastfed Infant. Pedi clini of North American. 48(1).

17- Diab, A.A; Elsayed, Z.I; Zahra, M,H; Shalaby, A.A. and Mohamed, E.F.E. (2015). Biological study of the extract of some species of *Vitex agnus-castus* (kafmurium) grown in Egypt. International Journal of pharma sciences and Research. 6(2):227-233.

18- Liu, J; Burdette, JE; Xu, H., Gu, C; Van Bremeen, RB; Bhat, KP; Booth, N; Constantinou, AI; Pezzuto, JM; Fong, HH; Farnsworth, NR. and Bolton, JL.(2001). Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. J Agric Food chem . 49(5):2472-2479.

19- Milewicz, A; Gejdel, E; Sworen, H; Sienkiewicz, K; Jedrzejak, J; Teucher, T. and Schmitz, H. (1993). *Vitex agnus castus* extract in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinemia. Results of arandomized placebo-controlled double-blind study. Arzneimittelforscung. 43(7): 752-756.

20-Sergerson, E.C. and Ganapathy, S.N. (1980). Fertilization of ovine selenium /vitamin E treated ewes maintained on two planes of nutrition J. Anim Sci. 51:386-394.

21-Ibrahim, NA; Shalaby, AS; Farag, RS; Elbaroty, GS; Nofal, SM. and Hassan, EM. (2008). Gynecological efficacy and chemical investigation of *Vitex agnus-castus* L. fruit growing in Egypt. Nat Prod Res. 22(6):537-546.

22- Jarry, H; Spengler, B; Porzel, A; Schmidt, J; Wuttlue, W. and Christoffel, V. (2003).Evidence for estrogen receptor B-Selective activity of *Vitex agnus-castus* and isolated flavones. Plant Medica, 69K:645-647.

23- Amri, O; Elguiche, R; Tahrouch, S; Zekhnini, A. and Hatimi, A.(2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the Southwest of Morocoo. Journal of chemical and pharmaceutical Research. 7(7):672-678.

24- Cicel, N; Eryilmaz, OG; Sarikaya, E; Gulerman, C. and Yasemin, G. (2012). Vitamin E effect on Controled Ovarian stimulation of unexplained infertile women. J Assist Reprod Genet. 29: 25-328.

25- الناصري, شذى حازم شاكر. (2014) دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات كف مريم على بعض وظائف الجهاز التناسلي الذكري وعدد من المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية والنسجية لدى ذكور الأرانب البيض المعرضة للكرب التأكسدي. رسالة ماجستير, كلية التربية – جامعة تكريت.

26- Nasri , S; Oryan , S; Haeri Rohani, A; Amin, GH. and Yahyavi , H.(2004). The Effects of *Vitex agnus castus* L. Extract on Gonadotrophines and Testosterone in Male Mice. Iranian Int. J. Sci. 5(1). p:25-30.

27-Warren, M.P. and Stiehl, A.L. (1999) Exercise and female adolescents: effects on the reproductive and skeletal systems. Journal of the American Medical Women's Association 54 (3), 115-120.

28-Silberstein, S.D. and Merriam, G.R. (2000). Physiology of the menstrual cycle. Cephalalgia. (20):148-154.

29- Lauritzen, C; Reuter, HD; Repges, R; Bohnert, KJ. and Schmidt, U. (1997). Treatment of premenstrual tension syndrome with *Vitex agnus castus* controlled double-blind study versus pyridoxine. Phytomedicine. 4:183-189.

30- Soules, M.F. (1989). Problems in reproductive endocrindogy and infertility. Baltimore, Williams and Wilkins.

31-Umeda, F; Kato, K; Muta, K. and Ibayashi, H. (1982). Effect of vitamin E on function of pituitary-gonadal axis in male rats and human subjects. Endocrinol JPn. 29(3):287-292.

32-YE, Q; Zhang, QY; Zhang, CJ; Wang, Y. and Qin, LP.(2010). Casticin, a flavonoid isolated from *Vitex rotundifolia* , inhibits prolactin release in vivo and vitro. Act Pharmacol Sin.31(12):1564-1568.

33- العكيدي, رنا ابراهيم خليل. (2009) دراسة التغيرات الحاصلة في مستوى الهرمونات الجنسية وهرمون البرولاكتين وعلاقتهما بمكونات الحليب لدى النساء المرضعات. رسالة ماجستير, كلية العلوم – جامعة تكريت.

34- Martin, A; Prior, R; Shukitt-Hale, B; Cao, G. and Joseph, J.A. (2015). Effect of fruits, Vegetables, or Vitamin E-Rich diet or Vitamins E and C distribution in peripheral and brain tissues. The Journal of Gerontology. 55(3).pp:B144-B151.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)
مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 21 (5) 2016

Study of the aqueous extract impact of *Vitex agnus castus* on the female reproductive system hormones of the Albino Rabbit exposed to oxidative stress

Munif Sa'ab Al-Janaby[1], Mousa Jasim Al-Humesh[2], Bassam Dheyaa Al-Samarray[3]
[1]*Department of Biology- College of Education of the Pure Sciences , University of Tikrit , Tikrit , Iraq*
[2] *Samarra University , Samarra , Iraq*

Abstract

In view of the wide use of the *Vitex agnus castus* in treatment of the monstrous troubles and as a regulation of the sexual Hormones, this study was conducted to know the impact of the aqueous extract of the *Vitex agnus castus* compared with Vitamin E on the sexual Hormones in the female white rabbits exposed to the hydrogen peroxide (0.5%) for (30) days and the rabbit were (6-8) months old and their weights (1300-1700) g. They were divided at random into (10) groups, each (5) rabbits to one group as following: (1) The health control group consumed the normal drinking water and the standard nutrition, (2) the infected control group consumed the hydrogen peroxide with drinking water and a nutrient, (3) the extract had a concentration (50mg/kg), (4) the extract(50mg/kg)+H_2O_2, (5) the extract (50mg/kg)+Vitamin E, (6) the extract (50mg/kg)+Vitamin E+H_2O_2, (7) Vitamin E, (8) the extract (100mg/kg), (9) the extract (100mg/kg)+H_2O_2, (10) the extract (100mg/kg)+Vitamin E+H_2O_2. The concentration of the sexual Hormones were estimated to know the impact of the aqueous extract of *Vitex agnus castus* on the functions and capacity of the sexual organ in the female rabbits. The results of study showed that giving these rabbits H_2O_2 with drinking water led to decrease significantly in concentrations of Progesterone, Estrogen, FSH, LH, Hormones, whereas they showed a significant increase in concentration of prolactin Hormone compared with the healthy control group. It was also showed a significant increase in Progesterone Hormone at the dose(50mg/kg) with Vitamin E compared with the healthy control group, as well as there was a significant decrease in concentration of LH Hormone in all groups compared with the healthy control except the Vitamin E group only that showed a significant increase($P<0.01$), whereas the concentration of Prolactin Hormone decreased in all groups compared with the healthy and infected. So we conducted that the *Vitex agnus castus* had an important role in fertility and inhibition of the Prolactin Hormone as the main cause of injuring the women by infertility.