

اثر عصاره گزنه بر پارامترهای تولید شیر در موش صحرائی

محمد رضا سلحشور^۱، سیروس جلیلی^{۱*}، دلیر یوسفی^۲

۱- مرکز تحقیقات باروری و نا باروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

*عهده دار مکاتبات: مرکز تحقیقات باروری و نا باروری، دانشکده پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

Email: cjalili@yahoo.com

چکیده

زمینه: تغذیه انحصاری با شیر به عنوان بهترین تغذیه برای شیر خواران است. این در حالی است که طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی سالانه ۱/۵ میلیون مورد مرگ شیرخوار به دلیل محرومیت یا عدم دریافت کافی شیر از غده پستان اتفاق می افتد. به نظر می رسد یکی از راه های افزایش شیر استفاده از داروهای گیاهی باشد. گزنه گیاهی است که حاوی آمینو اسیدهای ضروری، ویتامین ها و مواد مغذی فراوان می باشد. بر اساس منابع سنتی و طب گیاهی، گیاه گزنه برای افزایش شیر سینه توصیه می شود. مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر عصاره الکلی گیاه گزنه بر میزان پرولاکتین سرم و بافت پستان موش های صحرائی ماده طراحی گردید.

روش ها: در این مطالعه تجربی، موش های صحرائی ماده از نژاد ویستار خریداری و در ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند، عصاره هیدرو الکلی گزنه در دوزهای متفاوت، (۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/کیلو گرم) به صورت داخل صفاقی و به مدت ۲۱ روز به آنها تزریق شد. حیوانات بیهوش شدند و میزان پرولاکتین سرم توسط روش الیزا تعیین شد. مقاطع بافتی پستان رنگ آمیزی و مورد بررسی های مورفومتریک قرار گرفت.

یافته ها: یافته ها نشان داد که گزنه به طور معنی داری در دوز های ۲۰ (P=۰/۰۳۳) و ۵۰ میلی گرم/کیلو گرم (P=۰/۰۴۱) می تواند موجب افزایش تعداد آلئول ها شود. تغییرات در میزان هورمون پرولاکتین و قطر الوئولها نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود اگر چه در دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی گرم/کیلو گرم افزایش در قطر الوئولها و میزان هورمون پرولاکتین دیده شد (P=۰/۲۱).

نتیجه گیری: عصاره گزنه تا حدودی اثرات مثبت بر پارامترهای بافت پستان دارد.

کلید واژه ها: عصاره گزنه، شیر، موش صحرائی

مقدمه :

تغذیه انحصاری با شیر مادر به عنوان بهترین تغذیه برای کودک تا سن ۶ ماهگی است که علاوه بر تامین نیازهای جسمی و فیزیولوژیکی، مکمل نیازهای روانی کودک و مادر می باشد (۱). شیر مادر می تواند سبب پیشگیری از بیماری ها در یک سال اول زندگی شود (۲). با وجود علاقه مندی و اقدام بیشتر مادران به شیردهی از پستان، تنها درصد محدودی (کمتر از ۵۰٪) قادر به ادامه شیردهی در طول مدت مورد نیاز برای شیرخوار هستند و در بیشتر موارد مادران با قطع زودرس شیردهی مواجه می شوند (۳). اهمیت شیر دهی در ۲ سال اول پس از تولد نوزادان و مشکلاتی که در این زمینه برای مادران پیش می آید لزوم تحقیقات جدید را در جهت دست یابی و تولید داروهای شیرافزا را نشان می دهد (۴). این در حالی است که طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی سالانه ۱/۵ میلیون مورد مرگ شیرخوار به دلیل محرومیت یا عدم دریافت کافی شیر مادر اتفاق می افتد (۵). میزان ترشح پرولاکتین به طور فیزیولوژیک در طی بارداری و پس از زایمان در دوران شیردهی افزایش می یابد به طوری که در دوران بارداری غلظت پرولاکتین ۱۰ تا ۲۰ برابر بیشتر از حالت عادی است (۶). نقش های بیشمار و گوناگون پرولاکتین همچون پایداری فعالیت ترشحی غدد پستانی، همراهی عمل آن با آندروژن ها و اثر آن بر متابولیسم آندروژن ها تا به حال شناخته شده است (۷). تحقیقات متعددی در مورد داروهای شیمیایی به عنوان داروهای افزاینده شیر مادر انجام شده ولی این داروها به دلیل عوارض جانبی، آنچنان مورد استفاده قرار نگرفته اند (۸ و ۹). به نظر می رسد یکی از راه های افزایش شیر مادر استفاده از داروهای گیاهی باشد. گزنه جزء گیاهان علفی چند ساله است که با برگ های سبز روشن و پوشیده از پُرز مشخص می شود (۱۰). در طب سنتی گزنه به صورت های مختلف مصرف می شود و سال های طولانی است که

به عنوان گیاه دارویی و ماده مغذی وارد رژیم غذایی شده است. در طب سنتی برگ های جوان آن برای ازدیاد ترشح ادرار، تنظیم عادت ماهیانه و ازدیاد تولید شیر تجویز می شود (۱۱). مطالعات نشان داده اند که دم کرده این گیاه فعالیت های آنتی اکسیدانتی را در برابر اکسیداسیون فسفولیپیدها و لینولئیک اسیدهای ناشی از آهن داشته است (۱۲). خاصیت آنتی اکسیدانتی عصاره گزنه در جهت از بین بردن رادیکالهای آزاد، یون های سوپراکسید و هیدروژن پراکسیداز به اثبات رسیده است (۱۳). گزنه گیاهی است که حاوی آمینواسیدهای ضروری، مواد معدنی اثربخش از جمله آهن، کلسیم، پتاسیم و ویتامین هایی همچون A، C، D، B کمپلکس و K است. (۱۴). با توجه به مطالب عنوان شده در این مطالعه تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه بر پارامترهای تولید شیر در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها :

تعداد ۲۴ سر موش صحرایی ماده بالغ و سالم نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۳ هفته و محدوده وزنی ۲۲۰ - ۱۸۰ گرم از مؤسسه رازی تهران خریداری و به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش در حیوان خانه تحت شرایط آزمایشگاهی و در درجه حرارت 20 ± 2 با شرایط ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند تا با شرایط محیط و آب و هوا عادت کنند. موش ها بعد از تلقیح و سپری شدن مدت زمان بارداری در قفس های فلزی هر کدام جداگانه نگه داری شدند که دسترسی بدون محدودیت به آب و غذا داشتند. طول مدت مطالعه ۶ هفته بود (۱۵).

گیاه گزنه از فروشگاه های محلی تهیه شد. گیاه خشک و کاملاً آسیاب شد و به صورت پودر درآمد. سپس به نسبت ۱ به ۴ در اتانول ۷۰٪ به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه نگاه داشته شد. بعد از آن که به وسیله کاغذهای صافی بزرگ و کوچک فیلتراسیون دقیق انجام گرفت. عصاره خالص در حمام

بافتی ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا الکل آن تقریباً به طور کامل تبخیر شود. عصاره خشک به صورت پودر در آمد و به وسیله نرمال سالین غلظت های مختلف به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد. قبل از تجویز عصاره، موش ها وزن شده و بر اساس وزن موش ها تزریق صورت گرفت. برای تزریق از سرنگ های انسولین استفاده شد. تزریق به صورت داخل صفاقی بود (۱۶).

موش های صحرایی به طور تصادفی به ۱ گروه کنترل (دوز ۰ میلی گرم/ کیلوگرم) و ۳ گروه آزمایشی (دوزهای ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم)، جمعاً ۴ گروه تقسیم شدند و برای هر گروه شش سر موش در نظر گرفته شد.

۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، حیوانات وزن شدند و تحت بیهوشی قرار گرفتند. خون از قلب حیوانات گرفته شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در ادامه نمونه خون به مدت ۱۵ ثانیه سانتریفوژ شد. سرم مربوطه از خون جدا و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. هورمون پرولاکتین با استفاده از کیت الیزا و روش مربوطه اندازه گیری شد (۱۷).

بعد از فیکس نمودن بافت پستان و پروسه های آماده نمودن بافت (آب گیری، شفاف سازی و...) مقاطع میکروسکوپی (۵ میکرو متر) از بافتها تهیه شد. رنگ آمیزی H&E و بر اساس روش روتین انجام شد. از هر بافت ۲۰ بلوک به این شیوه تهیه و پس از انجام تصویر برداری، قطر الوئولها توسط نرم افزار موتیک

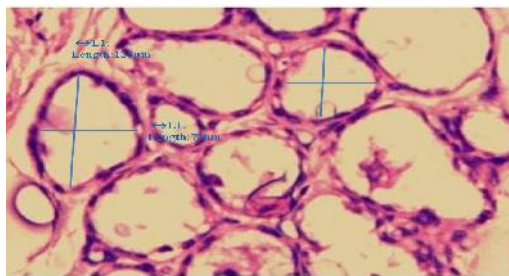
(Moticam 2000, Spain) اندازه گیری شد (شکل ۱) شمارش الوئولهای پستانی مبتنی بر یک نوع تکنیک نمونه برداری تصادفی بر پایه متدهای استریولوژیکی صورت گرفت. برای تعیین تعداد الوئول ها یک مربع ۱۰×۱۰ سانتی متری بر روی عکس تهیه شد و سپس تعداد الوئول های موجود در محدوده داخل مربع و آنهایی که بر روی خطوط بالا و راست بودند به صورت قرار دادی شمارش شد.

نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کلوموگراف اسمرینوف مشخص شد. برای آنالیز آماری از نرم افزار SPSS 16 و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. بررسی اختلاف بین گروه ها با استفاده از آزمون تعقیبی Tukey به انجام رسید.

یافته ها :

بر اساس نتایج حاصل شده از آزمون الیزا، میزان هورمون پرولاکتین در اثر تیمار با گزنه افزایش یافت ولی این افزایش از نظر آماری بین گروه های مورد بررسی معنی دار نبود ($P=0/21$) (جدول ۱).

نتایج آزمون های مورفومتریک نشان داد که تعداد الوئولها به طور معنی داری در دوزهای ۲۰ ($p=0/033$) و ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم ($p=0/041$) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (جدول ۱). قطر الوئولها در اثر تجویز گزنه نسبت به گروه کنترل افزایش یافت، اگر چه این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود ($P=0/21$) (جدول ۱).



شکل (۱)؛ تصویر بافت پستان و روش اندازه گیری قطر الوئولها (عصاره گزنه ۱۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم) توسط نرم

افزار موتیک. (بزرگنمایی ۱۰x)

جدول ۱: نتایج تاثیر عصاره گزنه بر روی میزان هورمون پرولاکتین، تعداد آلوئولها و قطر آلوئولها (انحراف معیار \pm میانگین و P-value)

گروه های مورد بررسی	کنترل	۲۰ mg/kg	۵۰ mg/kg	۱۰۰ mg/kg
هورمون پرولاکتین (ng/ml)	۰/۴۸ \pm ۰/۰۰۷	۰/۵۶ \pm ۰/۰۳۱	۰/۷ \pm ۰/۱۲۱	۰/۶۶ \pm ۰/۰۱۷
		p= ۰/ ۶۹۳	p= ۰/ ۱۱۲	p= ۰/ ۱۹۰
قطر آلوئولها (μ m)	۹۳/۲۱ \pm ۹/۲	۹۸/۳۸ \pm ۸/۰۴	۱۱۱/۴۴ \pm ۱۴/۷۷	۱۰۷/۴۷ \pm ۱/۵
		p= ۰/ ۹۹۷	p= ۰/ ۱۰۶	p= ۰/ ۲۲۴
تعداد آلوئولها	۱۰/۲ \pm ۱/۲۸	**۱۳/۲ \pm ۱/۰۱	*۱۷ \pm ۰/۵۴	۱۳/۶ \pm ۱/۵
		p= ۰/ ۰۴۱	p= ۰/ ۰۳۳	p= ۰/ ۵۸۴

* بر اساس نتایج آنالیز واریانس یکطرفه: p=۰/۰۳۳ * و p=۰/۰۴۱ ** نسبت به گروه کنترل معنی دار گزارش شد.

بحث:

در مطالعه حاضر، عصاره گزنه باعث افزایش معنی داری در تعداد آلوئولها شد ولی تاثیر معنی داری بر سایر پارامترهای مورد بررسی نداشت. در مطالعه حاضر، گزنه باعث افزایش پرولاکتین در دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی گرم/کیلو گرم شده است در حالی که این میزان افزایش تفاوت معنی داری با گروه سالیین نداشته است. به نظر می رسد تاثیر گزنه بر افزایش میزان شیر مادر در مطالعات انجام شده حاصل مواد غذایی ضروری باشد که از طریق این گیاه به مادر می رسد و مربوط به اثرات این ماده بر میزان تولید هورمون پرولاکتین نیست. نتایج حاصل مطالعات Gülçin و همکاران را تایید می کند که گزنه را ماده ای حاوی آمینواسیدهای ضروری دانسته و عنوان کرده که گزنه شیردهی را از طریق تهیه مواد غذایی ضروری حمایت می کند (۱۳).

دارد و با نتایج مطالعات حاضر همسو نیست. در مطالعه حاضر گزنه باعث افزایش تعداد آلوئول ها در گروه های مورد بررسی شده است. این مساله نشان دهنده آن است که گزنه توانسته بر بافت پستان اثرات مثبتی داشته باشد. از آنجایی که تکامل آلوئول های لوبول های پستانی در زمان شیردهی با میزان پرولاکتین سرم در ارتباط است (۱۸). می توان نتیجه گرفت که این میزان افزایش در تعداد آلوئول ها با میزان کم افزایش در میزان پرولاکتین سرم مرتبط است که این میزان بر قطر الوئول ها بی تاثیر بوده است. در مطالعه Duygu و همکاران، با وجود بررسی تاثیرات گزنه بر روی میزان پرولاکتین که همسو با مطالعات حاضر است (۱۹). در زمینه اثر مستقیم ماده مورد نظر بر بافت پستان گزارشی ارائه نشده است که نتایج این مطالعه میتواند مکمل نتایج مطالعات مشابه باشد. با توجه به این که گزنه حاوی آنتی اکسیدان های فراوان و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی فراوانی است (۲۰) و از آنجایی که فلاونوئیدها جزء دسته ای از ترکیبات به نام فیتواستروژن ها هستند (۲۱) و فیتواستروژن ها ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهانی می باشند که عملا ساختمانی مشابه استروژن دارند

Daniel و همکاران، اثر عصاره Cucurbita pepolinn را بر میزان پرولاکتین سرم زنان مورد بررسی قرار دادند (۱۷). نتایج نشان داد که ماده مذکور میزان پرولاکتین سرم را به طور معنی داری بالا میبرد که بر اثر یک گیاه دارویی بر میزان پرولاکتین تاکید

نتیجه گیری؛

مطالعه حاضر شواهد جدیدی مبنی بر نقش عصاره گزنه در افزایش شیردهی را نشان داد و بررسی مکانیسم های اثر بخشی عصاره این گیاه بر پارامترهای تولید شیر نیازمند آزمایشات تکمیلی مفصل تری است.

تقدیر و تشکر؛

این مقاله از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به شماره ۹۰۰۲۷ استخراج شد. بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که ما را در این طرح یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

(۲۲) بر این اساس می توان یکی از علل افزایش تعداد آلوئول های لوبولی را مرتبط با مکانیسم های استروژن دانست که با افزایش میزان اندک در پرولاکتین باعث اثر بر بافت پستان شده و باعث افزایش در تعداد آلوئول های لوبولی شده است. نظر به اینکه در بررسی های انجام شده در زمینه بررسی اثرات لاکتوژنیک گزنه بر موش صحرایی هیچ گزارشی بیان نشده بود لذا امکان مقایسه این پژوهش با تحقیقات دیگر از نظر تفاوت در شیوه های تزریق و نیز نژادهای مختلف موش صحرایی وجود نداشت. برای روشن تر شدن مسائل در زمینه مورد بحث، نیاز به تحقیقات گسترده تری می باشد.

References :

1. Picciano MF. Nutrient composition of human milk. *Pediatr Clin North Am* 2001;48(1):53-67.
2. American Academy of Pediatrics. Policy statement on breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 1997; 100(6):1035-9.
3. Hansen WF, Mcandrew S, Harris K, Zimmerman MB. Metoclopramide effect on breastfeeding the preterm infant: a randomized trial. *Obstet Gynecol* 2005;105(2):383-9.
4. Huggins K. Fenugreek: one remedy for low milk production. *Rental Roundup* 1998;15(1):16-17.
5. Walker A.R, Adam F.I. Breast-feeding in sub-Saharan Africa: outlook for 2000. *Public Health Nutr* 2000; 3(3):285-92.
6. Patton HD, Fuchs AF, Hille B, Scher AM, Stainer P. Text book of physiology, 21th ed., W. B. Saunders company, philadelphia,1989; 2:1209 – 61.
7. Akinloye A.K, Oke B.O. Sex Hormonal Pattern of the Female African Giant Rat (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse) at Different Stages of the Oestrous Cycle. *Nigerian Veterinary Journal* 2013; 33(3): 586-591.
8. Hum J. The Effect of Two Different Domperidone Doses on Maternal Milk Production. *journal of human lactation* 2013; 29:38-44
9. Paten A.M, Kenyon P.R, Lopez-Villalobos S.W, Peterson C.M, Jenkinson S.J, Blair H.T. Lactation Biology Symposium: Maternal nutrition during early and mid-to-late pregnancy: Comparative effects on milk production of twin-born ewe progeny during their first lactation. *J ANIM SCI* 2013; 91(2):676-684.

10. Zargari A. Herbal drugs. Fifth eds, vol 4 TUS publication institute. 1994, pp: 418- 19.
11. Lorenzo C.D, Agli M.D, Badea M , Dima L , Colombo E , Sangiovanni E, *et.* Plant Food Supplements with Anti-Inflammatory Properties: A Systematic Review (II). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2013; 53(5):507-516.
12. Matsingou T.C, Kapsokefalou M, Safiloglou A. Aqueous infusions of Mediterranean herbs exhibits antioxidant activity towards iron-promoted oxidation of phospholipids, linoleic acid, and deoxyribose. *Free Radical Res* 2001;35:593–605.
13. Gülçin I, Küfreviöglu O.I, Oktay M, Büyükökuroglu ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol* 2004; 90(2-3):205-15.
14. Mishra U, Kanesh J, Mandal A, Das R, Rayaguru K, Parija S. Potentials of herbal galactogogues in milk production in ruminants. *The Indian Cow: The Scientific and Economic Journal* 2006;2(9):44-52.
15. Haller J, Freund T.F, Pelczer K.G, Füredi J, Krecsak L, Zámboi J. The Anxiolytic Potential and Psychotropic Side Effects of an *Echinacea* Preparation in Laboratory Animals and Healthy Volunteers. *Phytotherapy Research* 2013;27(1):54-61.
16. Lotfi N, Khazaei M, Shariatzadeh S.M.A, Ghanbari A. The Effect of *Cannabis sativa* Hydroalcoholic Extract on Sperm Parameters and Testis Histology in Rats. *Int. J. Morphol* 2013; 31(1):82-86.
17. Danie E.E.I, Hamman W.O, Olorunshola K.V, Malgwi I.S. The study of effect of aqueous Cucurbita pepo linn seed extract on serum prolactin level of lactating female albinorats. *Scientific Journal of Medical Science* 2013 2(3):6-11
18. Oakes S.R, Rogers R.L, Naylor M.J, Ormandy C.J. Prolactin regulation of mammary gland development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2008; 13(1):13-23
19. Demiralp D.Ö, Haznedaroğlu İ.C, Akar N. Functional proteomic analysis of Ankaferd. Blood Stopper *Turk J Hematol* 2010; 27:70-77
20. Inić S, Kujundžić N. The original Croatian pharmacopoeia from 1901. *Parmazie* 2012; 6: 652-657.
21. Bialymstoku W. Influence of nargenin on the activating of enzymes participating in steroidogenesis in male rats. *Ruczniki Akademii Medyczne* 2004; 49:37-46.
22. Panjeshahin M, Dehghani F, Tahei T, Panahi Z. The effects of hydroalcoholic extract of *Actinidia chinesis* sperm count and motility and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats. *Archives of Iranian Medicine* 2005; 8(3):211-16.

The effect of Urticadoica extract on milk production parameters in Rats

Mohammad Reza Salahshoor¹, Cyrus Jalili*¹, Daleyr Yousefi²

- 1) Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
- 2) Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

* **Corresponding author:** Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences
Email: cjalili@yahoo.com

Abstract

Introduction: Exclusive breastfeeding is considered as the best nutritional choice for infants. However, according to the World Health Organization (WHO), 1.5 million infants die annually due to deprivation from or lack of breast milk. Urticadoica is a plant containing essential amino acids, vitamins and numerous nutrients. It seems that using medicinal plants is one of the methods of increasing breast milk. Urticadoica is recommended increasing breast milk based on traditional herbal medicine. The present study was designed to determine the effect of urticadoica extract on serum prolactin levels and the mammary tissue of rats.

Methods and Materials: In this experimental study, Wistar female rats were repurchased and divided into 4 groups (n=6) and Urticadoica Hydro alcoholic extract zero (control), 20, 50 and 100 mg/kg administered intraperitoneally for 21 consecutive days to animals. Animals were anesthetized and serum prolactin levels were determined by ELISA method. Breast tissue sections were stained and morphometric studies were done.

Results: Our findings indicated that urticadoica can increase significantly the number of alveoli of breast in doses of 20 (P=0.033) and 50 mg/kg (P= 0.041). Changes in serum prolactin level and alveolar diameter were not significant in comparison with control group. Nevertheless, serum prolactin levels and alveolar diameter increased in doses of 20 and 50 mg/kg (P = 0.21).

Conclusions: Urticadoica extract has a fairly positive effect on breast tissue parameters.

Key words; Urticadoica extract, milk, rat