

## The effects of *Petroselinum crispum* extract on milk production parameters in female rats

Roshankhah S<sup>1</sup>, Jalili C<sup>2</sup>, Salahshoor MR<sup>3</sup>

1. Assistant Professor of Anatomical Sciences, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

2. Professor of Anatomical Science, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

3. Associated Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran, (Corresponding Author) Tel: +98-831-7256181, Email: reza.salahshoor@yahoo.com

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Use of medicinal plants is one of the methods to increase breast milk. *Petroselinum crispum* is a multipurpose herb in traditional medicine which contains essential amino acids, vitamins and numerous nutrients. This study aimed to determine the effects of *Petroselinum crispum* extract on milk production parameters in female rats.

**Material and Methods:** In this experimental study, 32 Wistar female rats were randomly assigned to 4 groups; group1, control group (normal saline) and groups 2 to 4 (experimental groups). The experimental groups received various doses of *Petroselinum crispum* (100, 150, 200 mg/kg/day intraperitoneally) for 21 days. *Petroselinum crispum* extract was prepared. Prolactin hormone measurements were carried out based on RIA prolactin radio immune assay method. Using morphometrical techniques, prolactin receptor (PRLR) mRNA expression level and histological evaluation of *mammary* gland tissue were investigated. Data were analyzed by one way ANOVA test.

**Results:** *Petroselinum crispum* administration increased significantly all the parameters in experimental groups compared to those in the control group ( $P < 0.0001$ ).

**Conclusion:** *Petroselinum crispum* extract had positive effects on the milk production parameters in mammary glands.

**Keywords:** *Petroselinum crispum*, Milk production, Rat

Received: Dec 9, 2018

Accepted: Feb 20, 2019

**How to cite the article:** Roshankhah S, Jalili C, Salahshoor MR. The effects of *Petroselinum crispum* extract on milk production parameters in female rats. SJKU 2019; 24 (1): 11-23.

## اثرات عصاره گیاه پتروسیلینوم کریسپوم بر پارامترهای تولید شیر در موشهای صحرایی ماده

شیوا روشخواه<sup>۱</sup>، سیروس جلیلی<sup>۲</sup>، محمد رضا سلحشور<sup>۳</sup>

۱. استادیار علوم تشریح، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۲. استاد علوم تشریح، مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

۳. دانشیار علوم تشریح، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، (نویسنده مسئول) تلفن ثابت: ۰۸۳۱-۷۲۵۶۱۸۱، ایمیل:

reza.salahshoor@yahoo.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** استفاده از گیاهان دارویی یکی از روشهای افزایش تولید شیر در پستان بوده است. پتروسیلینوم کریسپوم گیاهی چند منظوره در طب سنتی است که شامل آمینو اسیدهای ضروری، ویتامین ها و مواد مغذی فراوانی است. هدف از مطالعه حاضر تعیین اثرات عصاره گیاه پتروسیلینوم کریسپوم بر روی پارامترهای تولید شیر در موش های صحرایی ماده می باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ رت ماده از نژاد ویستار بطور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه یک، گروه شاهد (نرمال سالین) و گروه ۲ تا ۴، گروه های مورد، که بصورت داخل صفاقی دوزهای متفاوت عصاره گیاه (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/ کیلوگرم) به مدت ۲۱ روز تجویز شد. عصاره گیری از گیاه پتروسیلینوم کریسپوم انجام شد. هورمون پرولاکتین بر اساس روش RIA prolactin radio immune اندازه گیری شد. میزان بیان ژن رسپتور پرولاکتین (PRLR)، بررسی های بافت شناسی بر اساس تکنیکهای مورفومتریک در نسج غده پستان انجام شد. یافته ها با استفاده از روش آماری واریانس یکطرفه آنالیز شدند.

**یافته ها:** تجویز پتروسیلینوم کریسپوم در تمام گروه های مورد مطالعه، موجب افزایش معنی داری در تمام پارامترهای مورد بررسی در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0.0001$ ).

**نتیجه گیری:** عصاره پتروسیلینوم کریسپوم اثرات مثبت بر پارامترهای تولید شیر در غدد پستانی دارد.

**کلید واژه ها:** پتروسیلینوم کریسپوم، تولید شیر، موش صحرایی

وصول مقاله: ۹۷/۹/۲۸ اصلاحیه نهایی: ۹۷/۱۱/۷ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱

## مقدمه

مراقبت از فرزندان پس از تولد و تغذیه آنان از مسائلی است که اهمیت آن بر هیچ کسی پوشیده نیست در این میان 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 برخی بیماری ها در یک سال اول زندگی شود (۲). با وجود علاقه مندی و اقدام بیشتر مادران به شیردهی از پستان، کمتر از ۵۰ درصد مادران 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 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 تا ۲۰ برابر بیشتر از حالت عادی است (۶). نقش های متفاوت 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).

جهت بهبود شیردهی و افزایش شیر مادران راه های درمانی مورد نیاز است که برطرف کردن این نقیصه اغلب از طریق داروهای شیمیایی صورت می گیرد. تحقیقاتی در مورد داروهای شیمیایی به عنوان داروهای افزاینده شیر مادر انجام شده ولی این داروها به دلیل عوارض جانبی، آنچنان

مورد استفاده قرار نمی گیرند (۸). به نظر می رسد یکی از راه های افزایش شیر مادر استفاده از داروهای گیاهی باشد. گیاه جعفری با نام علمی *Petroselinum crispum* از خانواده چتریان است که در نزدیکی مزارع رشد میکند و به عنوان یک سبزی در اکثر مناطق ایران مصرف می شود (۹). پتروسیلینوم کریسپوم خصوصیات تغذیه و فارماکولوژیکی بسیاری دارد. خواص متعددی در خصوص گیاه جعفری گزارش شده است از جمله بهبود فیروز کبدی (۱۰)، ادرار آور (۱۱)، ضد میکروب (۱۲)، ضد منورویا و آنتی اکسیدان قوی (۱۳). همچنین خواص دیگر پتروسیلینوم کریسپوم شامل تنظیم فشار خون، بهبود آگزما واز بین برنده سنگهای کلیوی می باشد (۱۴). در طب سنتی از این گیاه برای افزایش شیر مادر نیز استفاده می شود (۱۵). همچنین این گیاه شامل ویتامین C، فیتواسترول، پروتئین و مواد نشاسته ای بوده و همانند بسیاری از آنتی بیوتیک ها برای درمان زخمهای پوستی استفاده میشود (۱۶). نتایج حاصل از آنالیز HPLC نشان داد که ترکیبات آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی گیاه پتروسیلینوم کریسپوم حاوی بیشترین غلظت از عصاره *carvacrol* و *fumaric acid* به ترتیب به میزان  $119$  و  $966$  mg/kg است (۱۷). عناصر اصلی از بخش های مختلف گیاه فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت خنثی کنندگی رادیکالهای آزاد را نشان داده اند (۱۱).

نتایج مطالعه *AL-Shemary* و همکاران نشان داد که عصاره *Ocimum gratissimum* به دلیل وجود تانن می تواند موجب افزایش میزان پرولاکتین و متعاقباً افزایش میزان شیر دهی شود (۱۸). نتایج مطالعه *Bolzán* و همکاران نشان داد که آنتی اکسیدان ها می توانند موجب افزایش میزان هورمون پرولاکتین و افزایش میزان تولید شیر شوند (۱۹). همچنین نتایج مطالعه *Gass* و همکاران نشان داد که ترکیبات آنتی اکسیدانی می توانند باعث افزایش بیان ژن PRLR (ژن تولید کننده پرولاکتین) شوند (۲۰). نتایج

مجموعه علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و چهارم / فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸

حمام آب گرم (۳۶ درجه سانتی گراد) و در شرایط تاریکی قرار داده شد. در ادامه محلول از فیلتر کاغذی و پمپ خلاء عبور داده شد. جهت بدست آوردن محلول اضافی، محلول در دستگاه روتاتور قرار داده شد. مراحل جداسازی تا بدست آمدن عصاره ادامه یافت. عصاره در آب مقطر جهت بدست آوردن غلظت های (دوز) مورد مطالعه رقیق شد. عصاره در آب مقطر قابل حل بود (۱۵).

**گروه بندی و طراحی مطالعه:** موشهای صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه (هر گروه ۸ موش) تقسیم شدند. گروه ۱، گروه کنترل (شاهد)، در این گروه نرمال سالیین برابر میزان عصاره تجویز شده در سایر گروه ها دریافت شد. گروه های ۲ تا ۴، گروه های مورد (گروه های پتروسیلینوم کریسپوم)، در این گروه ها حیوانات با عصاره پتروسیلینوم کریسپوم با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم تیمار شدند. در همه گروه ها تجویز به صورت داخل صفاقی و محلول در نرمال سالیین و روزانه به مدت ۲۱ روز متمادی انجام شد (۲، ۱۵).

**روش رادیوایمونو (RIA):** چند ساعت پس از انجام آخرین تزریق حیوانات با تزریق مقدار معین 2% Xylazine و کتامین 10% بیهوش شدند و از قلب آنها به وسیله سرننگ، خون گیری به عمل آمد. خون حیوانات در لوله های آزمایش به طور آهسته ریخته شد و تا هنگام تشکیل لخته در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ (1000 g) به مدت ۱۵ دقیقه سرم آن جدا سازی شد. سرم های خون، با کمک سمپلر به لوله های اپندورف منتقل و پس از زدن برچسب نام هر گروه، درب آن را بسته و به فریزر با دمای ۲۰- سنتی گراد منتقل شد. اندازه گیری هورمونی بر اساس روش RIA پرولاکتین انجام گرفت. کیت از آنتی بادی های مونوکلونال موش، بطور مستقیم بر علیه دو اپی توپ متفاوت پرولاکتین استفاده می کند. از اینرو رقابتی در میان نیست. نمونه داخل لوله با اولین آنتی بادی مونوکلونال در

مطالعات فوق موید این نکته است که گیاهانی با خاصیت آنتی اکسیدانی هر یک به نحوی موجب افزایش میزان تولید شیر یا هورمونهای تولید کننده شیر شده اند. بنابراین با توجه به خواص آنتی اکسیدانی این گیاه و وجود برخی عناصر همانند مطالعات قبلی و گیاهان مشابه با پتروسیلینوم کریسپوم در آن و اینکه تا کنون مطالعه ای بر روی اثرات عصاره پتروسیلینوم کریسپوم بر غدد پستانی و میزان تولید شیر به انجام نرسیده است، بنابراین مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات عصاره گیاه پتروسیلینوم کریسپوم بر روی پارامترهای تولید شیر در موش های صحرایی ماده به انجام رسید.

### روش بررسی

**حیوانات آزمایشگاهی:** در این مطالعه تجربی، ۳۲ موش صحرایی ماده بالغ از نژاد ویستار (۲ الی ۳ ماهه) با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از انستیتو رازی ایران خریداری شد. بعد از باروری موشهای ماده توسط موشهای نر و پس از سپری شدن ۲۰ روز از بارداری، به طور متوسط هر موش مادر صاحب ۱۰ نوزاد شد. از یک هفته قبل از شروع مطالعه، موشها در لانه حیوانات دانشکده پزشکی در شرایط آزمایشگاهی، دمای  $20 \pm 2$  درجه سانتی گراد، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی به آب و غذای آزاد نگهداری شدند. هر ۸ حیوان در یک قفس استاندارد قرار داده شد. تمام مراحل مطالعه بر اساس بیانیه هلسینکی، قوانین تحقیقاتی کار با حیوانات و مصوبه کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام شد (کد اخلاق: IR.KUMS.REC.1397.495).

**تهیه عصاره گیاهی:** گیاه پتروسیلینوم کریسپوم از فروشگاههای محلی خریداری و پس پاک نمودن و جدا کردن برگها و ساقه به تایید گیاه شناس رسید. برگها و ساقه گیاه به مدت ۵ روز در فضای باز و محیط سایه خشک گردیدند و توسط آسیاب برقی پودر شدند. صد گرم از پودر به اتانول ۷۰ درصد اضافه شد. محلول بدست آمده در

حضور آنتی بادی مونوکلونال ثانویه پوشیده شد. مایع موجود در لوله ها بعد از اینکوبه شدن شستشو داده شدند و میزان رادیواکتیویته آنها سنجیده شد. میزان رادیواکتیویته متناسب با تراکم پرولاکتین در نمونه بود (۱۵).

**تکنیک real-time PCR** برای بدست آوردن میزان بیان ژن پرولاکتین رسپتور (PRLR) در غده پستان در گروه های مورد مطالعه، روش Real Time-PCR بکار برده شد. در آخرین روز از تیمار حیوانات (روز بیست و یکم)، حیوانات توسط کلروفورم بیهوش، کشته و تشریح شدند. غدد پستانی موشها بلافاصله خارج و در نیتروژن مایع فریز گردید و جهت مراحل بعدی در فریز ۸۰- درجه نگهداری شدند. در مرحله اول با استفاده از RNeasy

mini kit (Qiagen co) و بر اساس پروتکل مربوطه RNA از بافت پستان استخراج شد. با استفاده از DNase set kit، از نمونه های بدست آمده ژنومیک DNA حذف شد. با استفاده از RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit و رژن cDNA از RNA استخراج شده بدست آمد. میزان بیان ژن مورد نظر با استفاده از پرایمر 3-GAPDH (Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase) بعنوان اندوژنوس کنترل و بوسیله روش Maxima SYBR Green/Rox qPCR master mix (Fermentas co) از طریق تکنیک  $\Delta\Delta$ Comparative Ct (مشخص شد. توالی پرایمر های استفاده شده در جدول ۱ آمده است (۲۱)، (۲۲).

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده

نام پرایمر ها	توالی پرایمر ها
GAPDH-F	AAGCTCATTTCCTGGTATG
GAPDH-R	CTGCCACAAGAACTAGAGGATAAGA
PRLR -F	TCCTATTTGAGTCTGCAGCTTCAGTAGTCA
PRLR -R	CTTCCGTGACCAGAGTCACTGTCGGGATCT

GAPDH: Glyceraldehyde3-phosphatedehydrogenase, as endogenous Control. PRLR: prolactin receptor gene

و نمونه ها با استفاده از روش هماتوکسیفیلین و اتوزین رنگ آمیزی شدند. بیست برش عرضی از هر بلوک بافتی آماده شد و برشهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ انتخاب و بصورت راندم از ۳ قسمت آنها عکسبرداری شد. برای هر آلوتول تمام قسمت های سلول اندازه گیری شد. حاشیه (Outline) هر سلول آلوتول توسط میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۴۰ اندازه گیری شد. بزرگترین و کوچکترین محور هر آلوتول اندازه

### بررسی بافت شناسی و مورفومتریک:

**الف. اندازه گیری میانگین قطر آلوتول ها.** غدد پستانی در نرمال سالین شسته و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. عملیات آب گیری با استفاده از غلظت های صعودی الکل انجام شد. نمونه ها توسط زایلین شفاف سازی شده و در پارافین غوطه ور شدند. برشهای نازک (۴ میکرو متر) با استفاده از دستگاه میکروتوم (ساخت کشور آلمان) زده شد

**آنالیز آماری.** پس از کسب اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف تبعیت از توزیع نرمال داده ها در هر گروه انجام شد (جدول شماره ۱)، که در هر چهار گروه به تفکیک متغیرهای میانگین میزان پرولاکتین، میانگین قطر آلوئول ها و میانگین تعداد آلوئول ها از توزیع نرمال تبعیت می کرد ( $P > 0.05$ ). بنابراین برای تحلیل آماری از آزمون های پارامتریک استفاده شد که با توجه به تعداد گروه ها و برقرار بودن معیارهای لازم از تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) استفاده شد و با توجه به معنی دار بودن اختلاف میانگین در هر سه متغیر در بین گروه ها از آزمون تعقیبی (تکمیلی) توکی استفاده شد. عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ اجرا شد و سطح معنی داری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد

گیری شد و بر این اساس میانگین مورد نظر بدست آمد. حداقل ۵۰ آلوئول از هر ناحیه اندازه گیری شد. قطر هر آلوئول از طریق دوربین و نرم افزار موتیک (Moticam (2000, Spain) اندازه گیری شد (۲).

**ب. تعداد آلوئول ها.** بررسی مورفومتریک بوسیله قرار دادن eyepiece micrometer fitted بر روی یک میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگنمایی ۴۰ بر روی نمونه های رنگ آمیزی شده توسط روش هماتوکسیلین و اتوزین انجام شد. اندازه گیری تعداد آلوئول ها، با استفاده از نمونه های غدد پستانی، ۵ برش، ۳ فیلد و برای هر اسلاید بوسیله میکروسکوپ تحقیقاتی -Olympus BX-51T 32E01 متصل به دوربین DP12 با رزولوشن -3.34 million pixel و نرم افزار Olysia Bio-software (Olympus Optical, Tokyo, Japan) انجام شد (۲).

جدول ۱: وضعیت تبعیت از توزیع نرمال متغیرهای فاصله ای مورد مطالعه به تفکیک گروههای پژوهش

متغیر گروهها	پرولاکتین		قطر آلوئول ها		تعداد آلوئول ها	
	اماره	P value	اماره	P value	اماره	P value
گروه ۱ (دوز ۱۰۰)	۰/۴۷۸	۰/۹۷۶	۰/۶۸	۰/۷۴۴	۰/۷۸۵	۰/۵۶۹
گروه ۲ (دوز ۱۵۰)	۰/۴۴۳	۰/۹۸۹	۰/۸۴۳	۰/۴۷۵	۰/۵۸۱	۰/۸۸
گروه ۳ (دوز ۲۰۰)	۰/۳۴۶	۰/۹۹۸	۰/۸۶۳	۰/۴۴۶	۱/۰۶۱	۰/۲۱۱
گروه کنترل	۰/۶۴۷	۰/۷۹۷	۰/۸۹۶	۰/۳۹۹	۰/۹۵۲	۰/۳۲۵

### یافته ها

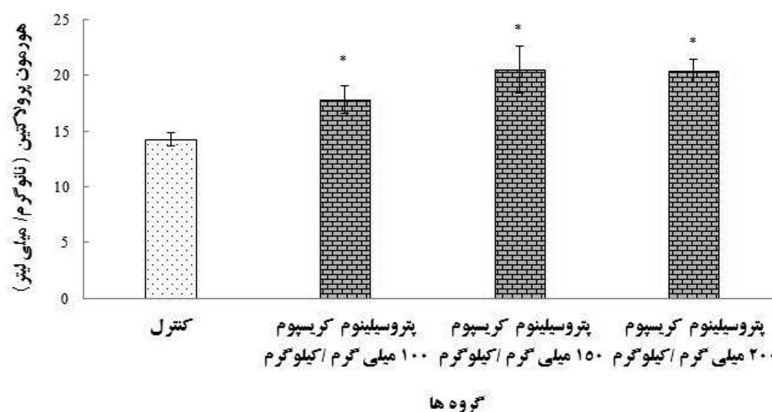
نتایج توصیفی و تحلیلی متغیرهای مطالعه در چهار گروه به تکیک در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول ۲: میانگین متغیرهای مورد مطالعه در نمونه های پژوهش

متغیر گروهها	میانگین	پرولاکتین		قطر آلوئول ها		تعداد آلوئول ها	
		انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین
گروه ۱ (دوز ۱۰۰)	۱۷/۸۳	۱/۲۴	۱۰۷/۹۱	۴/۶۱	۱۶	۱۳	
گروه ۲ (دوز ۱۵۰)	۲۰/۵۳	۲/۱	۱۱۵/۰۱	۶/۵	۲۰	۱/۸۵	
گروه ۳ (دوز ۲۰۰)	۲۰/۴۳	۱/۰۸	۱۱۸/۰۴۱	۵/۹۴	۲۱	۰/۵۴	
گروه کنترل	۱۴/۲۳	۰/۶۳	۸۰/۸۳	۳/۳۹	۱۰	۰/۷۶	
نتایج آماری		F=۳۷/۳۱۶	P=۰/۰۰۰۱	F=۸۲/۸۱۴	P=۰/۰۰۰۱	F=۱۳۲/۸۹	P=۰/۰۰۰۱

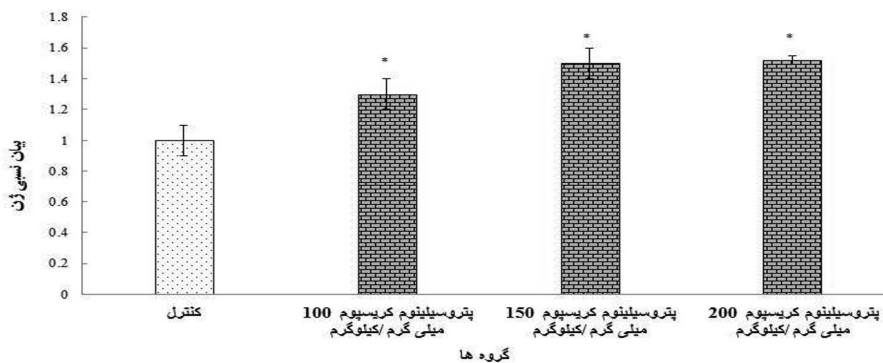
پس انجام آزمون توکی تعقیبی تنها اختلاف میانگین غلظت پرولاکتین در گروه ۲ و ۳ با هم تفاوت آماری معنادار نداشت ولی در سایر حالات تفاوت آماری معنادار بود ( $P < 0/0001$ ) (نمودار ۱).

**مطالعه هورمونی.** میانگین میزان هورمون پرولاکتین خون به طور معنی داری در حیوانات تیمار شده با عصاره پتروسیلیونوم کریسپوم در تمام دوزهای مورد بررسی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری بیشتر بود.



نمودار ۱- اثرات پتروسیلیونوم کریسپوم بر روی میزان هورمون پرولاکتین خون در موشهای صحرائی. \* افزایش معنی در تمامی گروه های پتروسیلیونوم کریسپوم در مقایسه با گروه کنترل ( $p < 0/0001$ )

**Real-time PCR** بررسی اثر عصاره پتروسیلیونوم کریسپوم بر روی میزان بیان mRNA ژن PRLR در غده پستان با استفاده از تکنیک real-time PCR نشان داد که تیمار با عصاره پتروسیلیونوم کریسپوم در تمام دوزهای مورد مطالعه موجب افزایش معنی داری در میزان بیان ژن PRLR نسبت به گروه کنترل می شود. ( $p < 0/0001$ ) (نمودار ۲).

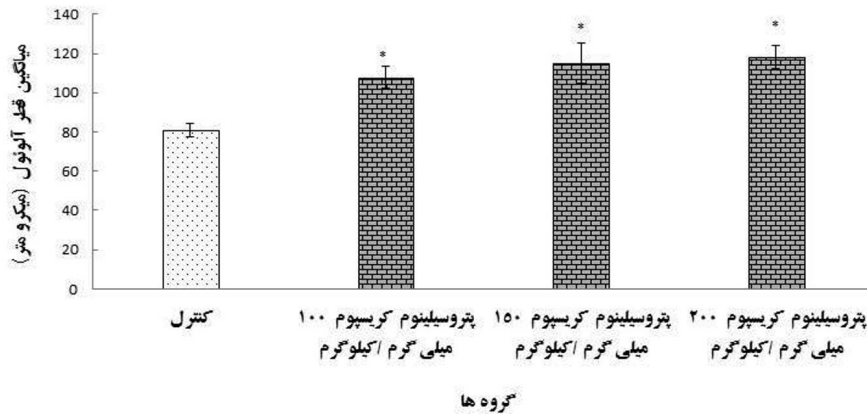


نمودار ۲- نتایج آزمون Real-time quantitative PCR بر روی میزان بیان PRLR mRNA در بافت پستان رت های تیمار شده با پتروسیلیونوم کریسپوم. افزایش نسبی میزان هر ژن با استفاده از تکنیک Comparative Ct ( $\Delta\Delta Ct$ ) بدست آمد. \* افزایش معنی دار در تمامی گروه های پتروسیلیونوم کریسپوم در مقایسه با گروه کنترل ( $p < 0/0001$ )

داری در میانگین قطر آلوئول ها نسبت به گروه کنترل می شود. ( $p < 0/0001$ ) پس انجام آزمون توکی تعقیبی تنها اختلاف میانگین قطر آلوئول ها در گروه ۲ و ۳ با هم تفاوت

**میانگین قطر آلوئول ها.** نتایج بررسی میانگین قطر آلوئول ها در گروه های مورد بررسی نشان داد که عصاره پتروسیلیونوم کریسپوم در تمامی دوزها موجب افزایش معنی

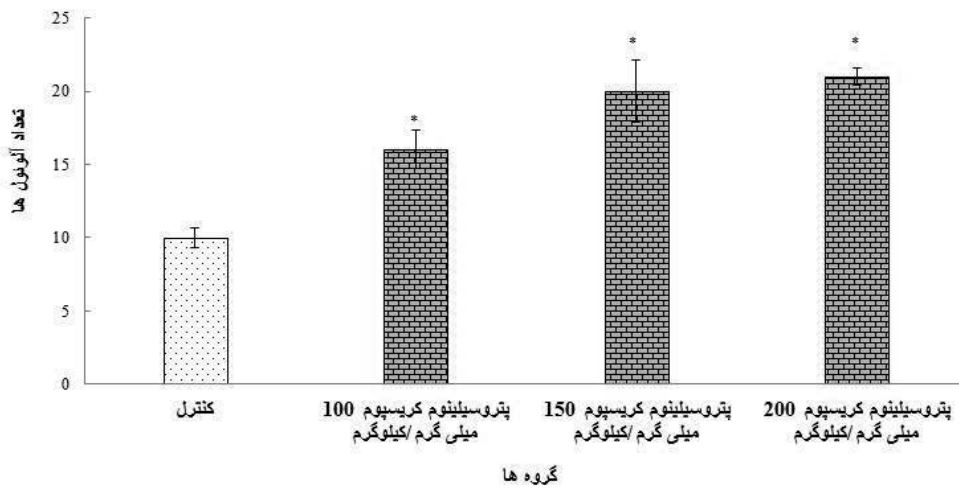
آماري معنادار نداشت ولی در سایر حالات تفاوت آماری معنادار بود ( $P < 0/0001$ ) (نمودار ۳).



**نمودار ۳-** اثرات پتروسیلینوم کریسپوم بر روی میانگین قطر آلئول ها در موشهای صحرايي. \* افزایش معنی در در تمامی گروه های پتروسیلینوم کریسپوم در مقایسه با گروه کنترل ( $p < 0/0001$ ).

تعقیبی تنها اختلاف میانگین تعداد آلئول ها در گروه ۲ و ۳ با هم تفاوت آماری معنادار نداشت ولی در سایر حالات تفاوت آماری معنادار بود ( $P < 0/0001$ ) (نمودار ۴).

**تعداد آلئول ها.** عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در تمامی دوزهای مورد مطالعه موجب افزایش معنی داری در میانگین تعداد آلئول ها در حیوانات تیمار شده نسبت به گروه کنترل شد. ( $p < 0/0001$ ) پس از انجام آزمون توکی

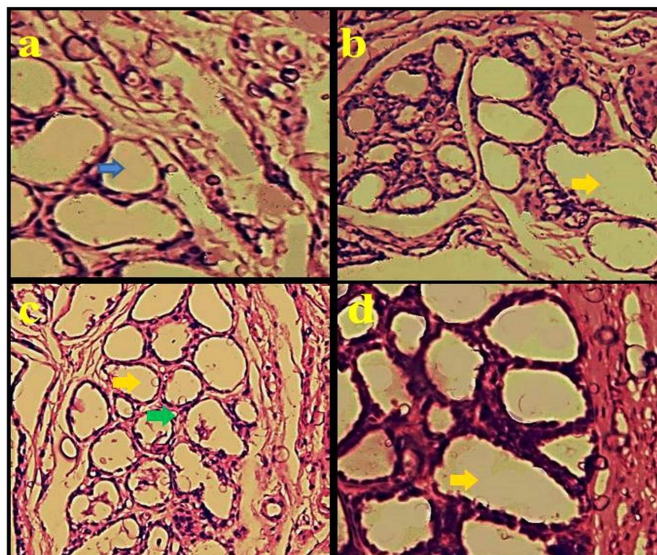


**نمودار ۴-** اثرات پتروسیلینوم کریسپوم بر روی میانگین تعداد آلئول ها در حیوانات مورد مطالعه. \* افزایش معنی در در تمامی گروه های پتروسیلینوم کریسپوم در مقایسه با گروه کنترل ( $p < 0/0001$ ).

## بررسی بافت شناسی

تیمار شده با عصاره پتروسیلینوم کریسپوم افزایش در اندازه لوبول ها و تعداد آلوتولوس ها را در آلوتول ها نشان داد که از میزان بافت چربی کمتری برخوردار بودند (شکل ۱).

مقاطع رنگ آمیزی شده توسط هماتوکسیلین / ائوزین در گروه کنترل میزان فراوانی از بافت چربی و لوبولهای پراکنده را در بافت پستان حیوانات نشان داد. بافت پستانی



شکل ۱. اثرات عصاره پتروسیلینوم کریسپوم بر روی بافت پستان ( تمامی گروه ها با رنگ آمیزی انورین / هماتوکسیلین رنگ آمیزی شده اند و بزرگنمای ۱۰۰ می باشد). بافت غده پستان در گروه کنترل (a)، الوتول ها دیده می شوند (پیکان آبی). گروه پتروسیلینوم کریسپوم (۱۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) (b)، گروه پتروسیلینوم کریسپوم (۱۵۰ میلی گرم / کیلوگرم) (c)، گروه پتروسیلینوم کریسپوم (۲۰۰ میلی گرم / کیلوگرم) (d)، مشاهده می شوند. افزایش سایز لوبول ها (پیکان زرد)، افزایش میزان آلوتول ها و کاهش بافت چربی آلوتول ها (پیکان سبز) مشاهده می شود.

## بحث

در مطالعه حاضر، اثرات عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در پارامترهای تولید شیر در بافت پستان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج کلی این مطالعه نشان داد که تجویز عصاره پتروسیلینوم کریسپوم می تواند موجب افزایش بیان ژن PRLR، افزایش میزان پرولاکتین در سرم و تغییرات مثبتی در بافت غدد پستانی به نفع افزایش تولید شیر شود که در ادامه به تفصیل به بحث و بررسی آن پرداخته می شود.

فرایند شیردهی، مهم ترین بخش تغذیه یک نوزاد می باشد و در برابر آن نبود تغذیه سالم و کافی برای نوزادان از مسائل مهمی است که پرداختن به آن ضروری می نماید (۲). لذا جهت بهبود شیردهی و افزایش شیر مادران راه های درمانی جدیدی مورد نیاز است. عصاره های گیاهان

می تواند اثرات متفاوتی بر اعضاء مختلف بدن داشته باشند (۳). یکی از اعضاء هدف برای عصاره های گیاهی غدد درون ریز و برون ریز بدن از جمله بخشهای مختلف بافت غدد پستان هستند.

در این مطالعه، تجویز عصاره پتروسیلینوم کریسپوم باعث افزایش میزان پرولاکتین در تمامی دوزهای تجویز شده در موشهای مادر در این مطالعه شد. میزان هورمون پرولاکتین به طور فیزیولوژیک در دوران بارداری و پس از زایمان افزایش می یابد و از جمله نقشهای آن پایداری فعالیت ترشحی غدد پستانی و تولید شیر می باشد. بنابراین افزایش میزان پرولاکتین میتواند با افزایش میزان تولید شیر در پستان همراه باشد (۲۳). تاثیر عصاره پتروسیلینوم کریسپوم بر افزایش میزان هورمون پرولاکتین در مطالعه حاضر می تواند

به علت وجود مواد غذایی و معدنی فراوان و ضروری از قبیل ویتامین C، فیتواسترول، پروتئین (آمینو اسیدهای ضروری) و مواد نشاسته ای باشد که از طریق این گیاه به عنوان یک سبزی به موشهای ماده رسیده است (۲۴). همچنین با توجه به بررسی مطالعات مشابه که بر روی افزایش میزان شیر دهی با استفاده از عصاره های گیاهی انجام شده است، به نظر می رسد با توجه به اینکه این گیاه غنی از Ascorbic acid, Tanins، ساپونین ها و بسیاری از موارد آنتی اکسیدان می باشد، این ترکیبات با اثر بر روی هیپوفیز یا محور هیپوتالاموس- هیپوفیز موجب افزایش هورمون پرولاکتین شده باشن (۱۱). به عبارت دیگر وجود تانین از یک طرف و همچنین وجود موارد آنتی اکسیدان فراوان در عصاره این گیاه می تواند همانند سایر مطالعات بر روی گیاهان با خواص مشابه در این زمینه با مکانسیم فوق موجب افزایش میزان تولید شیر در مطالعه حاضر شده باشد. نتایج مطالعه AL-Shemary و همکاران نشان داد که تانین موجود در عصاره *Ocimum gratissimum* می تواند موجب افزایش میزان پرولاکتین در خون شود که نتایج حاصل از مطالعه حاضر را تایید می کند (۱۸). نتایج مطالعه Daniel و همکاران، نشان داد عصاره *Cucurbita pepolinn* میزان پرولاکتین سرم را به طور معنی داری بالا میبرد که بر اثر یک گیاه دارویی بر میزان پرولاکتین تاکید دارد و با نتایج مطالعات حاضر همسومی باشد (۲۳). با توجه به نتایج مطالعه Bolzán و همکاران که نشان داد آنتی اکسیدان ها می توانند موجب افزایش میزان هورمون پرولاکتین در خون شوند (۱۹)، بنابراین به نظر می رسد خواص آنتی اکسیدانی بالای عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در مطالعه حاضر می تواند عامل دیگری علاوه بر وجود تانین در افزایش میزان هورمون پرولاکتین و متعاقباً افزایش میزان تولید شیر در حیوانات مورد بررسی باشد (۲۴). تجویز عصاره پتروسیلینوم کریسپوم باعث افزایش تعداد و قطر آلوتول ها در گروه های مورد بررسی شد. این مساله

نشان دهنده آن است که عصاره پتروسیلینوم کریسپوم توانسته است بر بافت پستان از لحاظ افزایش فاکتور های بافت شناسی تولید شیر (آلوتول ها) اثرات مثبتی داشته باشد. از آنجایی که تکامل آلوتول های لوبول های پستانی در زمان شیردهی با میزان پرولاکتین سرم در ارتباط است (۲). به نظر می رسد که این میزان افزایش در تعداد و قطر آلوتول ها با افزایش در میزان پرولاکتین سرم نیز در ارتباط بوده است. با توجه به این که عصاره پتروسیلینوم کریسپوم حاوی آنتی اکسیدانت های فراوان و میزان ترکیبات فلاونوئیدی می باشد (۲۵) و از آنجایی که فلاونوئیدها جزء دسته ای از ترکیبات به نام فیتواستروئیدها هستند و فیتواستروژن ها ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهانی می باشند که عملاً ساختمانی مشابه استروژن دارند (۲۶) بر این اساس می توان یکی از علل افزایش قطر و تعداد آلوتول های لوبولی را مرتبط با مکانسیم های استروژن دانست که با افزایش میزان پرولاکتین باعث افزایش در تعداد و قطر آلوتول های لوبولی شده است. نتایج مطالعه جلیلی و همکاران، نشان داد که عصاره *Utricia dioicia* به دلایل مختلف از جمله وجود ترکیبات فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی موجب افزایش قطر و تعداد الوتولها در بافت پستان می شود که موید نتایج مطالعه حاضر می باشد (۲). در واقع در مطالعه حاضر نقش عصاره بر روی افزایش میزان هورمون پرولاکتین به علت خواص آنتی اکسیدانی، تانن، ترکیبات فلاونوئیدی و غیره که پیشتر عنوان شد، علاوه بر تاثیر مستقیم افزایش پرولاکتین بر تولید شیر، آثار ثانویه بر بافت پستان را به صورت افزایش در تعداد و قطر الوتول ها نمایان می سازد که این دو عامل نیز دلیل دیگری بر افزایش میزان تولید شیر هستند. نتایج حاصل از مقایسه ی میزان بیان mRNA بین بافت پستان حیوانات کنترل و بافت پستان رت های تیمار شده با عصاره پتروسیلینوم کریسپوم نشان داد که میزان بیان ژن PRLR در بافت پستان رت های تیمار شده با عصاره پتروسیلینوم کریسپوم به طور معنی داری افزایش یافته است.

برای روشن تر شدن مسایل و ابهامات در این زمینه احتیاج به تحقیقات بیشتری در این زمینه وجود دارد، با این حال پژوهش حاضر شواهد جدیدی مبنی بر نقش عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در بهبود پارامترهای شیر دهی در نسج پستان را ارائه داد و نقش عوامل ملکولی و مکانیسم های دقیقتر دخیل در این امر، نیازمند بررسی های مفصل تری در این زمینه می باشد.

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر شواهد جدیدی مبنی بر نقش عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در افزایش شیردهی را نشان داد. تجویز عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در حیوانات مورد آزمایش در مطالعه حاضر موجب افزایش بیان ژن PRLR، افزایش میزان پرولاکتین در سرم و تغییرات مثبتی در بافت غدد پستانی به نفع افزایش تولید شیر شد. بررسی مکانیسمهای اثر بخشی عصاره این گیاه بر پارامترهای تولید شیر نیازمند آزمایشات تکمیلی مفصل تری در این زمینه می باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب در دانشگاه علوم پزشکی به شماره ۹۷۴۹۵ استخراج شد. بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی که ما را در این طرح یاری نمودند کمال تشکر را داریم.

### Reference

1. Zhou W, Yu Y, Qian Z. Challenges of breastfeeding in China under its universal two-child policy. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2018;1-2.
2. Jalili C, Salahshoor M, Yousefi D, Khazaei M, Shabanizadeh Darehdori A, et al. Morphometric and hormonal study of the effect of utrica diocia extract on mammary glands in rats. *Int J Morphol* 2015;33:983-7.
3. Almqvist Tangen G, Bergman S, Dahlgren J, Roswall J, Alm B. Factors associated with discontinuation of breastfeeding before 1 month of age. *Acta Paediatr* 2012;101:55-60.
4. Taveras EM, Capra AM, Braveman PA, Jensvold NG, Escobar GJ, Lieu TA. Clinician support and psychosocial risk factors associated with breastfeeding discontinuation. *Pediatrics* 2003;112:108-15.

PRLR یک رسپتور سیتوکینی و دومین cascades پیام رسان می باشد که در لوپوآلوئولار بافت پستان دیده می شود. PRLR از طریق ژنی که بر روی کروموزوم 5p13-14 می باشد کد می شود و با پرولاکتین بعنوان یک رسپتور ترانس غشایی در ارتباط است. بنابراین شامل نواحی خارج سلولی است که با پرولاکتین باند می شود. بیان بالای PRLR موجب افزایش سطح سرمی پرولاکتین و نیز کاهش حجم بافت چربی بینابینی در بافت پستان زنان شیرده می شود (۲۷). با توجه با نتایج مطالعه Gass و همکاران که ترکیبات انتی اکسیدانی می توانند باعث افزایش بیان ژن PRLR شوند و نتایج مطالعه حاضر را تایید می کند (۲۰)، به نظر می رسد عصاره پتروسیلینوم کریسپوم نیز با توجه به میزان بالای انتی اکسیدانها، از همین مکانیسم موجب افزایش میزان بیان ژن PRLR در مطالعه حاضر شده است. ساپونین می تواند موجب افزایش بیان ژن PRLR و افزایش میزان تولید شیر گردد (۲۸). با توجه به حجم بالای ساپونین در عصاره پتروسیلینوم کریسپوم به نظر می رسد یکی از دلایل افزایش میزان بیان ژن PRLR و افزایش میزان پرولاکتین در سرم خون در اثر تیمار حیوانات با عصاره پتروسیلینوم کریسپوم در مطالعه حاضر وجود ساپونین علاوه بر مواد آنتی اکسیدانی در ترکیبات عصاره این گیاه باشد (۲۹).

5. Velle-Forbord V, Underdal MO, Vanky E. Breastfeeding and future maternal health—no causal evidence. *JAMA Intern Med* 2018;178:870-1.
6. Akinloye A, Oke B. Sex hormonal pattern of the female african giant rat (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse) at different stages of the oestrous cycle. *Nigerian Vet J* 2012;33: 586-91.
7. Knoppert DC, Page A, Warren J, Seabrook JA, Carr M, Angelini M, et al. The effect of two different domperidone doses on maternal milk production. *J Hum Lact* 2013;29:38-44.
8. American Academy of Pediatrics Committee on Drugs. Transfer of drugs and other chemicals into human milk. *Pediatrics* 2001;108: 776-89..
9. Wong PY, Kitts DD. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chem* 2006;97:505-15.
10. Petrolini FVB, Lucarini R, Souza MGMD, Pires RH, Cunha WR, Martins CHG. Evaluation of the antibacterial potential of *Petroselinum crispum* and *Rosmarinus officinalis* against bacteria that cause urinary tract infections. *Braz J Microbiol* 2013;44:829-34.
11. Corrêa Filho LC, Martinazzo AP, de Souza Teodoro CE, Vivès L. Microbiological quality and essential oil of parsley (*Petroselinum crispum*) submitted to the hygienizing and drying process. *Ind Crops Prod* 2018;114:180-4.
12. Ghorbani R, Mokhtari T, Khazaei M, Salahshoor MR, Jalili C, Bakhtiari M. The effect of walnut on the weight, blood glucose and sex hormones of diabetic male rats. *Int J Morphol* 2014;32:833-8.
13. Jalili C, Khani F, Salahshoor MR, Roshankhah SH. Protective effect of curcumin against nicotine-induced damage on reproductive parameters in male mice. *Int J Morphol* 2014;32:844-9.
14. Nielsen S, Young JF, Daneshvar B, Lauridsen S, Knuthsen P, Sandström B, et al. Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. *Br J Nutr* 1999;81:447-55.
15. Jalili C, Salahshoor MR, Naderi T. The effect of hydroalcoholic extract of *P. crispum* on sperm parameters, testis tissue and serum nitric oxide levels in mice. *Adv Biomed Res* 2015;4:40.
16. Al-Howiriny T, Al-Sohaibani M, El-Tahir K, Rafatullah S. Preliminary evaluation of the anti-inflammatory and anti-hepatotoxic activities of 'parsley'*petroselinum crispum* in rats. *J Nat Med* 2003;3:54-62.
17. Heidari T, Moazedi AA, Seyyednejad SM, Borojeni MP. The role of histaminergic H2 receptors on spasmolytic activity of hydroalcoholic extract of parsley (*Petroselinum crispum*) Seeds in Isolated Rat's Ileum. *J Nat Med* 2018;17:114-24.
18. AL-Shemary NNA, Mousa SA, Muslim ZZ. Histological and hormonal study about the effect of aqueous extract of *Ocimum gratissimum* on female reproductive system in albino mice. *J Pharm Sci Res* 2018;10:765-7.
19. BolzÁN AD, Bianchi MS, Cónsole GM, Goya RG .Relationship between pituitary hormones, antioxidant enzymes, and histopathological changes in the mammary gland of senescent rats. *Exp Gerontol* 1997;32:297-304.
20. Gass S, Harris J, Ormandy C, Brisken C. Using gene expression arrays to elucidate transcriptional profiles underlying prolactin function. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003;8:269-85.

21. Dastjerdi MN, Salahshoor M, Mardani M, Rabbani M, Hashemibeni B, Gharagozloo M, et al. The apoptotic effects of sirtuin1 inhibitor on the MCF-7 and MRC-5 cell lines. *Res Pharm Sci* 2013;8:79–89.
22. Nagano M, Kelly PA. Tissue distribution and regulation of rat prolactin receptor gene expression. Quantitative analysis by polymerase chain reaction. *J Biol Chem* 1994;269:13337-45.
23. Daniel E, Hamman W, Olorunshola K, Malgwi I. The study of effect of aqueous Cucurbita pepo linn seed extract on serum prolactine level of lactating female albinorats. *Sci J Med Sci* 2013;2:6-11.
24. Damabi NM, Moazedi A, Seyyednejad S. The role of  $\alpha$ -and  $\beta$ -adrenergic receptors in the spasmolytic effects on rat ileum of *Petroselinum crispum* Latifolium (parsley). *Asian Pac J Trop Dis* 2010;3:866-70.
25. Rezazad M, Farokhi F. Protective effect of *Petroselinum crispum* extract in abortion using prostadin-induced renal dysfunction in female rats. *Avicenna J Phytomed* 2014;4:312-9.
26. Haidari F, Keshavarz SA, Shahi MM, Mahboob SA, Rashidi MR. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) and its flavonol constituents, kaempferol and quercetin, on serum uric acid levels, biomarkers of oxidative stress and liver xanthine oxidoreductase aactivity in oxonate-induced hyperuricemic rats. *Iran J Pharm Res* 2011;10:811-9.
27. Jalili C, Salahshoor MR, Hoseini M, Roshankhah S, Sohrabi M, Shabanizadeh A. Protective effect of thymoquinone against morphine injuries to kidneys of mice. *Iran J Kidney Dis* 2017;11:142-50.
28. Benchaar C, McAllister T, Chouinard P. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *J Dairy Sci* 2008;91:4765-77.
29. Simon JE, Quinn J. Characterization of essential oil of parsley. *J Agric Food Chem* 1988;36:467-72.