



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۳

صفحات ۱۷۹-۱۷۳

بررسی اثرات عصاره آبی بذر گیاه کتان بر جنین، جفت و سلول‌های هوف بوئر موش BALB/c در روزهای ۳، ۴، ۵، ۶ بارداری

نرجس میراب^۱، پروین تراب زاده^{۲*}، منیره موحدی^۲

۱. واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲. دانشکده علوم، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

* نویسنده مسئول: torabzadeh@kia.ac.ir

چکیده

کتان از جمله گیاهان داروایی است که به دلیل وجود عناصر مفید مانند اسید لینوئیک، فیبر، لیگنان مورد بررسی بسیاری قرار گرفته است و برای درمان گرگرفتگی یائسگی، افسردگی، کاهش قند خون، کاهش چربی خون پیشنهاد می‌شود. از آن جا که هورمون استروژن، یکی از عوامل موثر در دوران بارداری می‌باشد و غلظت نرمال این هورمون در اتمام موفق بارداری الزامی است. با در نظر گرفتن میزان فراوان فیتواستروژن (استروژن گیاهی) موجود در بذر گیاه کتان احتمال داده شد که مصرف این گیاه در دوران اولیه بارداری اختلالاتی بوجود آورد. بر این اساس تاثیر عصاره آبی بذر گیاه کتان بر وزن جنین، وزن جفت و تعداد سلولهای هوف بوئر بررسی شد.

پژوهش حاضر روی ۹ گروه موش BALB/C، هر گروه شامل ۱۰ سر موش انجام شد. گروه کنترل هیچ عصاره‌ای دریافت نکرده و گروه شاهد آب مقطر دریافت کرد و گروه‌های تجربی در چهار روز متوالی ۳-۶ بارداری عصاره آبی بذر گیاه کتان به ترتیب دوزهای (۰.۷۵/۰.۲/۰.۱/۰.۰۵) دریافت کردند. کلیه گروه‌ها در روز ۱۵ بارداری تشریح شدند. وزن جنین و جفت و تعداد سلولهای هوف بوئر محاسبه گردید. یافته‌های گروه تجربی و کنترل با استفاده از آزمون آنوا و دانکن و تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

وزن جنین و وزن جفت به دنبال دریافت مقادیر مختلف عصاره آبی بذر گیاه کتان نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار و تعداد سلول‌های هوف بوئر افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان داد. احتمالاً عصاره آبی بذر گیاه کتان موجب کاهش رشد و نمو جنین و جفت شده است و افزایش تعداد سلول‌های هوف بوئر، تاثیر گیاه کتان را به عنوان عامل خارجی تایید کرد.

واژه‌های کلیدی: بذر گیاه کتان، سلول هوف بوئر، جفت



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 5(3)173-179, 2014

The study of Effects of aqueous extract of flaxseed on feta, placental and Hofbauer cell in BALB/c mice on days 3-6 of pregnancy

Mirab, N.¹, Torabzade, P.^{2*}, Movahedi, M.²

1. Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2. Faculty of science, karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

* Corresponding author: torabzadeh@kiaiu.ac.ir

Abstract

Flaxseed (*Linum usitatissimum*) is an example of the herbs that has been under investigation of including lignin, fiber, α -linolenic acid (ALA), omega-3, phytoestrogen and suggested to be used for the treatment of menopausal hot flashes, depression, decrease blood glucose levels, blood lipids level. Since estrogen is one of the factors in pregnancy and the normal concentration of this hormone during pregnancy is essential in the successful copletio. According to the high levels of phytoestrogens in flaxseed, the use of this plant in early pregnancy causes disturbances. That's why, the effect of aqueous extract of flaxseed on fetal weight, placental weight and the number of hofbauer cell was determined.

Nine groups of Balb/c, each includes ten adult females were selected. The experimental groups received (0.05•0.1•0.2•3.75•7.5•15• 21 mg/kg. b. w) of flaxseed. The control group received no medication, and the sham group received only distilled water. The samples were taken at 15 of gestation. Weight of Fetal, placental weight and the number of hofbauer cell measured and analyzed as well. The results were analyzed by Duncan, ANOVA and TUKY test between the control and experimental group. Weight of fetal and placenta in the experimental groups showed statistically significant decrease comparing with control group ($P<0.05$). Flaxseed probably caused decreasing in developmental of fetal and placenta. The increasing number of hofbauer cell confirmed that flaxseed is an external factor.

Key words: flaxseed, hofbauer cell, placenta

مقدمه

گیاهان از دوران باستان برای درمان بیماریها مورد توجه بودند. با گذر زمان، پیشرفت علم، شناخت ترکیبات موجود در گیاهان و کمی عوارض جانبی آنها نسبت به داروهای شیمیایی به طور محسوس‌تری مورد استفاده قرار گرفتند. از جمله گیاهی که مورد توجه واقع شد گیاه کتان با نام علمی *Linum usitatissimum* است. عناصر و ترکیبات موجود در این گیاه مانند لینولئیک اسید، فیبر، لیگنان، امگا-۳، مواد معدنی، فیتواستروژن موجب شد که برای درمان بیماریهای قلبی - عروقی، سرطان‌ها، التهاب، افسردگی، پوکی استخوان، گرگرفتگی دوران یائسگی و کاهش قند و چربی خون استفاده شود (۱۶ و ۱۴ و ۱۳ و ۱۱ و ۱۰ و ۵).

بر اساس تحقیقات انجام شده فیتواستروژن که در واقع استروژن گیاهی می‌باشد، عملکردی مشابه استروژن در بدن انجام می‌دهد. فیتواستروژن با قرار گرفتن بر روی گیرنده‌های استروژنی β توانایی افزایش تاثیر هورمون استروژن را دارد. حال آنکه تعادل هورمون استروژن در دورانهای مختلف بخصوص در زنان باردار نقش بسزایی بر جنین و اتمام موفق بارداری ایفا می‌کند (۷).

سلولهای هوف بوئر (hofbauer cell) جزو ماکروفاژهای جنینی محسوب می‌شوند این سلولها تقریباً گرد با هسته‌های اغلب خارج از مرکز و سیتوپلاسم واکونله هستند. این سلولها همزمان با پیشرفت حاملگی تعداد آنها افزایش می‌یابد. این ماکروفاژها دارای خاصیت فاگوسیتیک هستند (۴ و ۱۵).

با در نظر گرفتن فراوانی فیتواستروژن در گیاه کتان احتمال داده شد که مصرف این گیاه در دوران بارداری خطراتی به همراه داشته باشد. بدین منظور تاثیر عصاره بذر گیاه کتان بر وزن جنین، وزن جفت و تعداد سلولهای هوف بوئر موجود در جفت موشهای ماده BALB/c در روزهای ۳ تا ۶ بارداری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۹۰ سر موش ماده BALB/c با وزن تقریبی ۲۷-۲۳ گرم که در شرایط استاندارد (در کل دوره آزمایش حیوانات تحت سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند و به آب و غذا بصورت نامحدود دسترسی داشتند. دمای محیط 21 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت ۶۰-۵۰٪ بود. تغذیه با غذای موش صورت می‌گرفت) نگهداری می‌شدند. استفاده گردید. به منظور تعیین روزهای مشخص حاملگی موش‌های نر و ماده آمیزش داده شد و با مشاهده درپوش واژنی روز صفر حاملگی تعیین گردید. گروههای مورد آزمایش: (A) گروه کنترل که هیچ تیمار دارویی دریافت نکردند. (B) گروه شاهد: تنها آب مقطر به عنوان حلال دریافت نمودند. (C) گروه تجربی: شامل ۶ گروه که عصاره آبی بذر گیاه کتان را در دوزهای مختلف (۰/۰۵، ۰/۲، ۰/۷۵، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۷، ۲۱ mg/kg.b.w) دریافت کردند موش‌های ماده در روز ۱۵ بارداری تشریح گردید. وزن جنین‌ها و جفت‌های خارج شده توسط ترازوی دقیق اندازه‌گیری و یادداشت شد. برای شمارش سلولهای هوف بوئر پس از برش جفت و تهیه لام از گروه کنترل و تجربی، لامها با میکروسکوپ معمولی مشاهده گردید. شمارش این سلولها در ۱۰ مقطع و در هر مقطع، ۱۰ میدان دید، بررسی شد. مشاهدات یادداشت و مورد بررسی قرار گرفت.

روش تهیه عصاره آبی: بذر گیاه کتان آسیاب شده و به صورت پودر در آمد. پودر حاصل توسط دستگاه سوکسله به مدت ۱۲ ساعت با آب مقطر عصاره‌گیری شد. سپس بر اساس وزن، عصاره در ساعت مشخص، به مقدار تعیین شده و در چهار روز متوالی ۳، ۴، ۵، ۶ بارداری بوسیله سرنگ انسولین و به صورت درون صفاقی تزریق گردید.

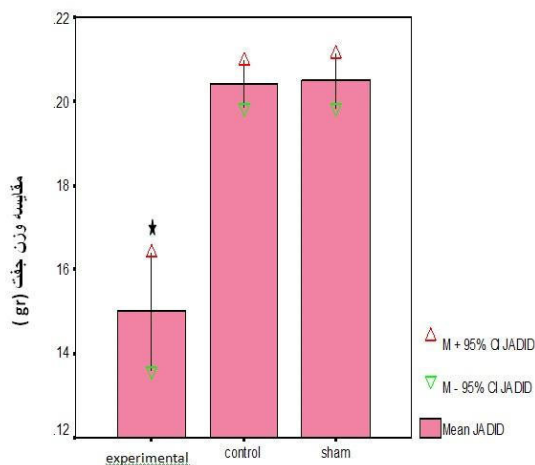
نتایج:

در این پژوهش وزن جنین‌های خارج شده در روز ۱۵ بارداری اندازه‌گیری شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج حاصله، کاهش معنی‌دار در وزن جنین گروه‌های

جفت‌های خارج شده از گروه‌های تجربی با جفت‌های گروه کنترل و شاهد مقایسه گردید. در نتایج آماری کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) وزن جفت‌های گروه‌های تجربی نسبت به جفت‌های گروه کنترل و شاهد مشاهده شد.

جدول ۲- نتایج تحلیل آماری در مورد وزن جفت‌های روز ۵۱ بارداری تزریق در ۴ روز متوالی ۳-۶ بارداری ($\bar{X} \pm SD$)

مشاهدات	وزن جفت (gr)
تجربی	$0.150 \pm 0.06182^*$
sham	0.2050 ± 0.02025
کنترل	0.20409 ± 0.02762
p	$p < 0.05$



هیستوگرام ۲- مقایسه وزن جفت‌های گروه تجربی (gr) با گروه کنترل، Sham، در روز ۱۵ بارداری تزریق در ۴ روز متوالی ۵، ۳، ۴ و ۶ بارداری

سپس تغییرات بافتی جفت بین گروه‌های تجربی و کنترل نیز بررسی شد. آنالیز آماری نشان داد که تعداد سلول‌های هوف بوئر در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) داشته است.

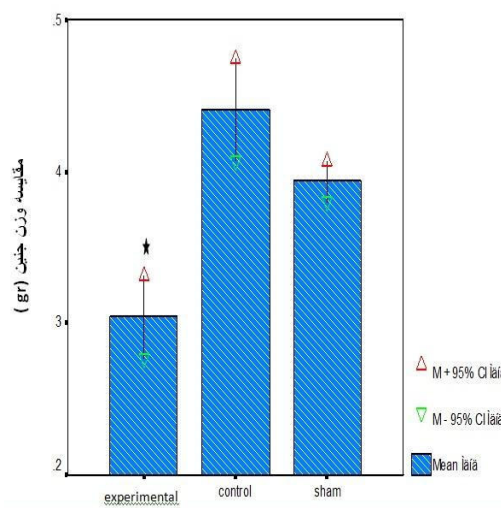
تجربی نسبت به گروه کنترل در ($P < 0.05$) نشان داد.

جدول ۱- نتایج تحلیل آماری در مورد وزن جنین‌های روز ۱۵ بارداری تزریق در ۴ روز متوالی ۵، ۳، ۴، ۶ بارداری ($\bar{X} \pm SD$)

مشاهدات	وزن جنین (gr)
تجربی	$0.3044 \pm 0.11944^*$
sham	0.29244 ± 0.06170
کنترل	0.44041 ± 0.16780
p	$p < 0.05$



تصویر ۱- استریوفتومیکروگراف مقایسه جنین گروه تجربی (تصویر a بزرگنمایی ۲۸X) و جنین گروه کنترل (تصویر b بزرگنمایی ۲۸X) در روز ۱۵ بارداری



هیستوگرام ۱- مقایسه وزن جنین‌های تجربی (gr) با گروه‌های کنترل، Sham (شاهد) در روز ۱۵ بارداری تزریق در ۴ روز متوالی ۵، ۳، ۴ و ۶ بارداری

بحث و تفسیر

بذر گیاه کتان بدلیل خاصیت اثبات شده ضد افسردگی، کاهش قند و کاهش چربی خون بویژه در زنان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶ و ۱۴ و ۱۳ و ۱۱ و ۱۰ و ۵). با اطلاع از اینکه تحقیقات اندکی در زمینه اثر بذر گیاه کتان بر بارداری انجام شده است، در این پژوهش به اثرات این گیاه در دوران بارداری و جنین پرداخته شد و نتایج اینگونه تفسیر شد.

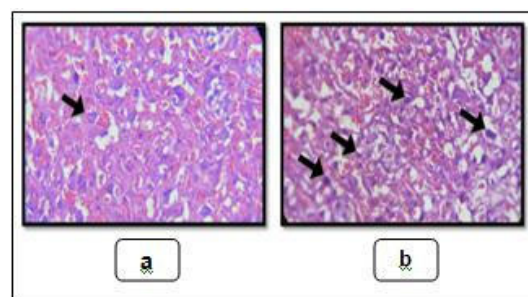
در بررسی‌های میکروسکوپی مقاطع سهمی - میانی جفتهای گروههای تجربی در مقایسه با نمونه‌های گروه کنترل شمارش سلولهای هوف بوئر انجام شد که افزایش معنی داری ($P < 0.05$) گزارش گردید در توجیه این مشاهده می‌توان گفت یکی از راه‌های دفاع بدن در برابر عوامل خارجی افزایش سلول‌های سیستم ایمنی مانند، لنفوسیتها، منوسیتها و سلولهای ماکروفاژی می‌باشد. جفت نیز از اندامهایی است که در حفاظت و بقا جنین در مقابل عوامل خارجی نقش موثری دارد. از جمله مکانیسم‌های دفاعی جفت افزایش تعداد سلول‌های هوف بوئر می‌باشد. سلولهای هوف بوئر جزء ماکروفاژهای جنینی با خاصیت فاگوسیتیک هستند، در مجاورت رگهای خونی و در میان سلولهای تروفوبلاست قرار دارند و برای مقابله با عوامل خارجی فعال می‌شوند. افزایش این سلولها در مطالعه حاضر حاکی از این است که سیستم ایمنی جنین در حال فعال شدن می‌باشد و تعداد سلولهای هوف بوئر در جهت مقابله با عوامل بیگانه افزایش یافته‌اند. با توجه به اینکه شرایط یکسانی برای گروه کنترل و تجربی فراهم شد و تنها عامل متفاوت در این پژوهش عصاره آبی بذر گیاه کتان می‌باشد می‌توان چنین استنباط کرد که تزریق عصاره آبی بذر گیاه کتان موجب افزایش تعداد سلولهای هوف بوئر گردیده است (۱ و ۴ و ۱۲ و ۱۵).

در تحقیقاتی که توسط محققى به نام Flynn و همکارانش در سال ۲۰۰۳ بر روی رشد و نمو جنین موش تغذیه شده با سرم حاوی بذر کتان انجام شد، کاهش CR و اندازه جنین گزارش گردیده است (۳). در پژوهش حاضر نیز کاهش

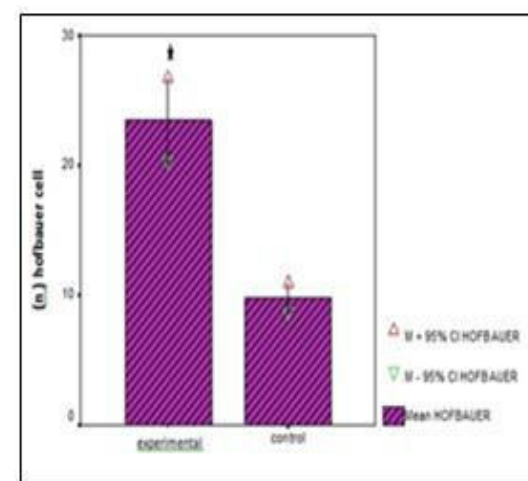
جدول ۳- نتایج تحلیل آماری مقایسه تعداد سلول‌های هوف بوئر

در جفت تجربی با گروه کنترل ($\bar{X} \pm SD$)

مشاهدات	hofbauer cell (n)
تجربی	۲۳/۴۶ ± ۱/۶۲۰*
کنترل	۹/۸۰ ± ۰/۵۶۹
P	p < 0.05



تصویر ۲- فوتومیکروگراف جفت کنترل (تصویر a بزرگنمایی تصویر ۲۰۰X) و جفت گروه تجربی (تصویر b بزرگنمایی ۴۰۰X) در روز ۱۵ بارداری



هیستوگرام ۳- مقایسه تعداد سلول‌های هوف بوئر (hofbauer cell)

در جفت‌های گروه تجربی با گروه کنترل در روز ۱۵ بارداری

معنی‌داری در وزن جنین، وزن جفت گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$) که با تحقیقات سایر محققین همخوانی داشته است. احتمالاً این نتایج به دلیل وجود فیتواستروژن موجود در گیاه کتان می‌باشد. فیتواستروژن به دلیل شباهت ساختاری با استروژن می‌تواند بر گیرنده‌های β استرادیول سلول قرار گرفته، مکانیسم عملی مشابه استروژن را فعال کند و موجب افزایش میزان هورمون استروژن شود (۲ و ۹). نهایتاً ممکن است که افزایش هورمون استروژن در رشد و نمو جنین و جفت خلل ایجاد کرده باشد. پیش‌بینی می‌شود که معنی‌دار بودن کاهش وزن جنین و وزن جفت گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل به علت تاثیر فیتواستروژن موجود در عصاره آبی بذر گیاه کتان بوده است.

بر اساس نتایج این پژوهش استفاده از گیاه کتان به زنان باردار توصیه نمی‌شود و در صورت نیاز به مصرف بذر گیاه کتان با مشاوره‌ی متخصصین مربوطه استفاده شود.

Refrance

1. Billingham R.E., Brent L., Medawar P.B.(2003) Actively acquired tolerance of foreign cells. *Transplantation*.;76(10):1409-12

2. D Brooks,J., E Ward,w, E Lewis,J., Hilditch,J., Nickell,L.,U., Thompson,L.,(2004) Supplementation with flaxseed alters estrogen metabolism in postmenopausal women to a greater extent than does supplementation with an equal amount of soy,the *American journal of clinical nutrition*, 79:318 –25

3. Flynn,T.J,Collins,T.F.X,Sprando,R.L,Black, T.N,Ruggles,D.I.,Wiesenfeld,P.W.,Babu,U.S, (2003),Developmental effects of serum from flaxseed-fed rats on cultured rat embryos , *Food and Chemical Toxicology* 41 , 835–840 (www.elsevier.com/locate/foodchemtox)

4. Grigoriadis C, Tympa A, Creatsa M, Bakas P, Liapis A, Kondi-Pafiti A, Creatsas G,(2013), Hofbauer cells morphology and density in placentas from normal and pathological gestations, *Charalampos Grigoriadis 2nd Department of Obstetrics and Gynecology, Aretaieion University Hospital*, 35(9):407-12

5. Madhusudhan, b., (2009), Potential Benefits of Flaxseed in Health and Disease-A Pespective, *Agriculturae Conspectus Scientificus*, vol.74, 2(67-72)

6. Osman,H.,(2011),the potential effect of flaxseed on female postmenopausal rats,*Nature and Science*,9,4

Ososki,l.kennelly,j.,(2003),phytoestrogen,published on,17,845-869

7. PRIYA, G., RADHIKA KRISHNAN, J., SUNDARAPANDIAN, S., (2014) The Number of HOFBAUER Cells Increases inPreeclamptic Placenta:an ImmunohistochemicalStudy,vol 4 Issue :

4 ISSN - 2249-555X

8. Retana-marquez, S., Hernandez, H.,Flores, F.,Munoz-Gutierrez, M., Duarte, G., Vielma,J.,Fitz-Rodriguez, G., Fernandez , I., Keller, M.,Delgadillo, J.A.,(2012),EFFECTS OF PHYTOESTROGENSON MAMMALIAN REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY, *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Vol.15,1:129-145

9. Sharrif Moghaddasi , M., (2001), Linseed and Usages in Humanlife, *Advances in Environmental Biology*, 5(6): -1392, (2011),ISSN 1995-0756 (Mohammad Sharrif Moghaddasi, Islamic Azad University/Saveh branch, Iran)

10. Singh,K.K.,Mridula,D. , Jagbir Rehal, Barnwal,P., (2011), Flaxseed: A Potential Source of Food, Feed and Fiber, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Volume 51, Issue 3, 210-222

11. Tang,Z.,(2013), Placental hofbauer cells and complications of pregnancy, *NCBI* ,1221,103-108

12. Tarpila,A.,(2005),Flaxseed as a Functional Food,current topics in nutraceutical research3,3,167-188

13. Werner,c.,Merz,B.,(2006),AssessmentReport on linum usitatissimum L.,semen,European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use,167395

14. Wetzka ,b. Clark, D.E., Charnock-Jones, D.S., Zahradnik, H.P, Smith, S.K. (1997) Isolation of macrophages (Hofbauer cells) from human term placenta and their prostaglandin E2 and thromboxane production. *Human Reproduction* vol.12 no.4 pp.847–852,

15. Zargari,A. (1997) Medicinal plants, *Academic jihad of Tehran university*,vol.1,408-413

