فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال اول، شماره ۱، زمستان ۱۳۸۷

بررسی اثرات هیستوپاتولوژیک عصاره برگ گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) بر روی تکامل بافت استخوان دراز در جنین موش صحرایی

مهناز آذرنیا[۱]، باقر مینایی[۲]، زیبا مظفری[۳]، یاسر تهمتنی[۱*]

[۱] دانشگاه تربیت معلم تهران، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی.

[۲] دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، آزمایشگاه هیستوپاتولوژی.

[۳] دانشگاه آزاد تهران شمال، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی.

* (عهده دار مکاتبات) yaserta@yahoo.com

چکیده

عصاره برگ گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum- graecum* leaves aqueous extract [TGLE]) با کاربردهای درمانی متعددی در طب سنتی شناخته شده است. در مطالعه فعلی اثر سمیت عصاره TGLE روی بافت استخوان دراز جنین مورد بررسی قرار گرفت. ۱۲ موش ویستار ماده بالغ Sprague-Dawley با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. آنها به ٤ گروه سه تایی تقسیم شدند به منظور جفت گیری در هر قفس یک موش نر بالغ از همان نژاد قرار داده، بعد از عمل لقاح، مشاهده پلاک واژینال و بررسی اسمیر واژنی، نرها را جدا و روز صفر حاملگی را تعیین کردیم. در روز ۱۰ حاملگی عصارهی TGLE در یک نوبت با روش درون صفاقی در سه دوز متفاوت (۰/۸ g/kg b.w، ۱/٦ و ۳/۲) به موش های باردار تزریق شد. تمام موش ها را در روز ۲۰ بارداری بیهوش کرده و بعد از خارج کردن جنین ها از رحم و جدا سازی بافت استخوان دراز اندام های عقبی جنین، این بافت از نظر میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات هیستوپاتولوژیکی روی بافت استخوان جنین به ترتیب در دوزهای ۰/۸ g/kg b.w، ۱/٦ و ۳/۲ به صورت خفیف (mild)، متوسط (moderate) و شدید (sever) قابل مشاهده بودند و در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان می دادند ($P<0/05$). بنابراین TGLE به صورت وابسته به دوز، قادر به بروز اثرات نامطلوبی روی جزئیات بافتی ساختمان و رشد سلولی استخوان دراز در جنین موش صحرائی بود.

واژه های کلیدی: عصاره برگ *Trigonella foenum- graecum*؛ استخوان دراز؛ جنین موش صحرایی

مقدمه

این گیاه (graecum) تحت نام شنبلیله در طب سنتی ایران با مصارف درمانی فراوان شناخته شده است [۱،۲]. این گیاه دارویی که از تیره بقولات، زیر تیره پروانه آسا و جنس *Trigonella* می‌باشد، بومی ایران و دارای منشأ قدیمی از هند و آفریقای شمالی است [۱۴]. مصرف آن در نزد مردم از حیث درمانی و تغذیه ای بسیار متداول بوده و از برگ آن در هند به عنوان سبزی با منبع بالایی از کلسیم، آهن، بتا کاروتن و ویتامین های دیگر استفاده می شود [۲۳]. از روغن دانه آن در فرانسه جهت عطر سازی و در آلمان از آن به جای قهوه استفاده می شود[۶].

پروفسور L. Renon اولین کسی بود که مصرف آن را در تغذیه مسلولین آزمایش کرد و نتایج درخور تحسینی به دست آورد و متعاقب آن، مطالعات بیشتر تأثیرات مفید آن را تأیید کردند [۱] شواهدی وجود دارد که نشان می دهد دانه و برگ شنبلیله دارای فعالیت ضد دیابتی هستند [۲۲]. بر

Archive of SID

www.SID.ir

طبق مطالعات قبلی دریافت دهانی و درون صفاقی عصاره آبی برگ گیاه *Trigonella foenum-graecum* سبب بروز اثرات هیپو گلیسمیک در موش های صحرائی نرمال و هیپر گلیسمیک شده، با alloxan می شود [۴]. همچنین عصاره دارای اثرات تنظیم کنندگی ایمنی بالائی است [۱۰].

بدین ترتیب گزارش های متعددی جهت تأیید فواید درمانی و تغذیه ای آن وجود دارد، اما در مطالعه دیگری نشان داده شده که رژیم غذایی حاوی ٪۳۰ دانه گیاه موجب فعالیت ضد لقاحی در هر دو جنس خرگوش نر و ماده می شود [۹]. همچنین گزارش شده که شنبلیله با اثر تحریکی بر روی رحم که ناشی از حضور استروژن است، سبب بروز اثرات نامطلوبی در دوران بارداری می شود [۵].

از این رو با توجه به مصرف بالای گیاهان دارویی در طب سنتی و تغذیه ای، که در رژیم غذایی خیلی از افراد نیز گنجانده شده، بررسی اثرات سمیت احتمالی آن روی جنین در دوران بارداری ضروری به نظر می رسد. اما از آنجاییکه مطالعات در این زمینه بسیار اندک است، لذا در مطالعه فعلی سعی کردیم به بررسی تأثیر سمی این گیاه روی مرحله اندام زایی که از فرایند های مهم دوران تکوین جنین است بپردازیم. از این رو با تعیین LD_{50} و به منظور روشن شدن قسمتی از مکانیسم سمیتی آن، میزان دوز آستانه تراتوژن عصاره آبی برگ محاسبه و به دنبال آن میزان تأثیر احتمالی عصاره روی روند استخوان سازی داخل غضروفی در بافت استخوان جنین مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری گیاه مورد آزمایش

بخش های هوایی گیاه شنبلیله در مرحله گلدهی (در فصل بهار) از مزارع اطراف تهران (ارتفاع ۱۱۱۰ متر از سطح دریا) جمع آوری و سپس توسط دکتر امین (عضو هیئت علمی مؤسسه گیاهان داروئی دانشکده دارو سازی دانشگاه علوم پزشکی تهران) شناسائی و تأیید شد. شماره هرباریومی ثبت شده از این گیاه 6683-TEH بود.

طرز تهیه‌ی عصاره برگ گیاه شنبلیله

پس از جدا کردن برگ‌های سبز و تازه ی گیاه، آنها را در دمای معمولی و قسمت سایه گیر اتاق خشک کردیم. ابتدا مقدار مورد نیاز از برگ خشک شده ی گیاه را توزین و پس از جوش آمدن آب داخل بشرها که روی دستگاه حرارت دهنده‌ی برقی (Heater) قرار داشتند، به آب جوش اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. سپس محتوای بشرها را با استفاده از پارچه‌ی تنظیف سه لایه صاف کرده و مایع حاصل را متعاقباً روی بن ماری در حال جوش قرار داده تا آب آن به خوبی تبخیر گردد و یک عصاره غلیظ با ویسکوزیته بالا (که به سختی حرکت می‌کرد) به دست آید. سر بشر حاوی عصاره با ورق آلومینیوم پوشانده و تا زمان تزریق به حیوان، در یخچال نگهداری شد. قبل از تجویز، عصاره با آب مقطر به نسبت های دلخواه رقیق گردید (در حجم ۱/۵ میلی لیتر).

حیوانات آزمایشگاهی

در این تحقیق از ۱۲ موش نژاد ویستار (Wistar) بالغ زیر گونه Sprague-Dawley استفاده شد. موش ها در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰g-۲۰۰ از مؤسسه ی سرم سازی رازی (واقع در حصارک کرج) تهیه شدند. برای حیوانات که در اتاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی تهران نگهداری می شدند، شرایط دمایی ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ٪۵۵ - ٪۴۵ و پریود نوری ۱۲+۱۲ ساعت که توسط یک تایمر الکتریکی تنظیم می شد، فراهم گردید. در طی آزمایش نیز با سیستم آبخوری اتوماتیک و غذای آماده استاندارد، خریداری شده از شرکت "دام پارس" تغذیه می شدند. موش‌ها یک هفته قبل از جفت‌گیری در موقعیت جدید قرار گرفتند تا به آن عادت کنند. لذا جهت سازش با محیط جدید تمام آزمایشات پس از گذشت ۷ روز از استقرار یافتن حیوانات انجام شد.

باردار کردن موشهای ماده

بعد از سازش یافتن موشها به شرایط جدید در هر قفس، ۳ الی ۴ موش ماده و یک موش نر سالم و جوان از همان نژاد قرار دادیم، تا عمل جفت‌گیری انجام گیرد. برای عمل جفت‌گیری موش‌ها در بعد از ظهر روز مورد نظر در کنار هم قرار گرفتند و صبح روز بعد موشهای نر را جدا کرده وپس از مشاهده پلاک واژینال برای اطمینان از وجود عمل لقاح از تست اسمیر استفاده شد. در صورت مثبت بودن تست اسمیر در گسترش واژنی، آن روز به عنوان روز صفر حاملگی تعیین و موش های باردار برای گروه بندی انتخاب گردیدند.

Archive of SID

www.SID.ir

گروه بندی حیوانات مورد مطالعه

در این تحقیق۴ گروه موش آزمایشگاهی (در هر گروه ۳ موش ماده باردار) در نظر گرفته شد. که ۳ گروه عصاره را با دوزهای مشخص دریافت کردند و ۱ گروه به عنوان کنترل فقط آب مقطر دریافت نمود. گروههای دریافت کننده عصاره را به ترتیب زیر با غلظتهای معین دریافت کردند:

- گروه اول ۰/۸ g/kg b.w در یک نوبت در روز دهم بارداری.
- گروه دوم ۱/۶ g/kg b.w در یک نوبت در روز دهم بارداری.
-گروه سوم ۳/۲ g/kg b.w در یک نوبت در روز دهم بارداری.

برای گروه کنترل فقط آب مقطر در حجم ۱/۵ ml در نظر گرفته شد. در هر گروه ۳ موش ماده باردار قرار داشت، که در روز بیستم بارداری، یعنی یک روز قبل از زایمان به بارداری آنها خاتمه داده شد. جنین‌ها از رحم خارج گردیده و جهت تهیه مقاطع بافتی مورد بررسی قرار گرفتند.

روش تزریق (تجویز) عصاره

ماده تزریقی در این تحقیق عصاره‌ی برگ گیاه شنبلیله است، که برای تجویز باید به صورت محلول در آید. بدین منظور قبل از مصرف، میزان مورد نظر از عصاره برای هر گروه آزمایشی (چون عصاره بسیار غلیظ تهیه شده بود، بر اساس وزن هر موش میزان عصاره مورد نیاز بر حسب گرم اندازه گیری گردید) را در آب مقطر حل کرده و به حجم ۱/۵ ml رسانیده و در یک نوبت در روز ۱۰ حاملگی به روش درون صفاقی (IP) به موش‌های ماده تزریق گردید. بدین منظور موش را از ناحیه‌ی گردن گرفته و عصاره ی مورد نظر را از قسمت بالای ران به درون حفره‌ی صفاقی تزریق می‌کنیم.

تهیه نمونه بافتی جهت مطالعه‌ی میکروسکوپی

ابتدا نمونه استخوان های بزرگ (استخوان ران) اندام های عقبی جنین ها جدا گردیده و بلافاصله در فرمالین ۱۰٪ تجاری قرار گرفتند (برای مدت بیش از یک هفته) ؛ بدین ترتیب، نمونه ها در فیکساتور فرمالین تثبیت شدند. سپس، شستشو داده شده و در محلول اسیدی (متشکل از ۱۰۰ml اسید فرمیک، ۱۸۰ml اسید کلریدریک و ۸۲۰ml آب مقطر) قرار گرفتند. در این مرحله نسج را باید مرتب امتحان کرد تا وقتی نرم شد، وارد مراحل بعدی گردد. پس از آن مراحل آبگیری (به مدت ۸-۱۰ ساعت و به ترتیب از الکل با غلظت ۵۰٪ تا الکل مطلق)، الکل زدایی (به مدت ۱۰ ساعت با گزیلن)، نفوذ دادن پارافین (به مدت ۱۲ ساعت) و سرانجام قالب گیری انجام شد. سپس با استفاده ازمیکروتوم، مقاطع سریال ۵ میکرومتری از نمونه ها تهیه و با روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شدند.

تعیین LD50

در تحقیق فعلی برای محاسبه دوز تزریقی به حیوان جهت تعیین مقدار دوز تراتوژن، احتیاج به تعیین LD_{50} بود. پس از انجام آزمایش مقدار آن در موش ماده مورد آزمایش 4.1 g/kg b.w محاسبه گردید. روش ما در تعیین این دوز، همانند روش عبدل باری و همکاران (۱۹۹۶) [۴] بود.

شاخص‌های هیستوپاتولوژیکی

شاخص‌های هیستوپاتولوژیکی مثل کاهش رسوب ماده معدنی استخوان (= Reduced Mineralization Rm)، عدم شکل گیری صفحه رشد غضروفی (Deformation of growth cartilage plate = Dg)، عدم شکل گیری یقه ی استخوانی (ضخیم و نازک شدن) (Deformation in Bone Collar = Db)، شکل گیری غیرطبیعی استخوان دراز (Abnormal Long Bone form =AL) و باریک شدن حفره مغز استخوان (Narrow of Bone Marrow = Nm) مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج این مطالعه بصورت تعداد علامت مثبت که نمایانگر حالتهای - (بدون تأثیر)، + (تأثیر خفیف)، ++ (تأثیر متوسط)، +++ (تأثیر شدید) می باشند نشان داده شد و پس از تبدیل به مقادیر عددی تحت بررسی آماری قرار گرفت.

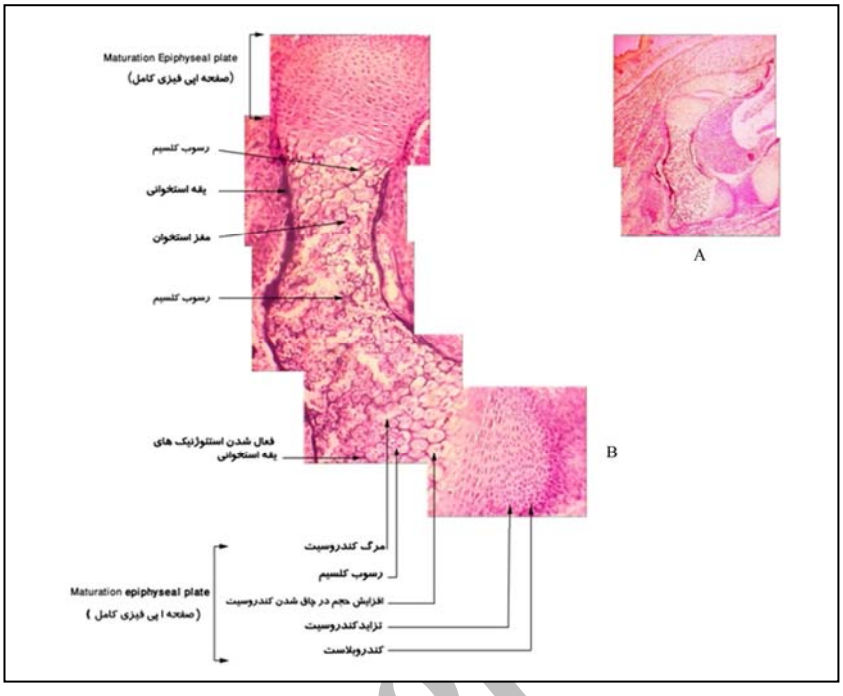
تحلیل آماری

در آنالیز آماری این تحقیق از برنامه نرم افزاری SPSS (ویراست ۱۱) استفاده شد و به دلیل اینکه داده های هیستوپاتولوژیک کیفی بودند و توزیع نرمال نداشتند، جهت مقایسه میانگین تغییرات آنها در بین گروهها از آزمون Kruskal-Wallis test که یک نوع

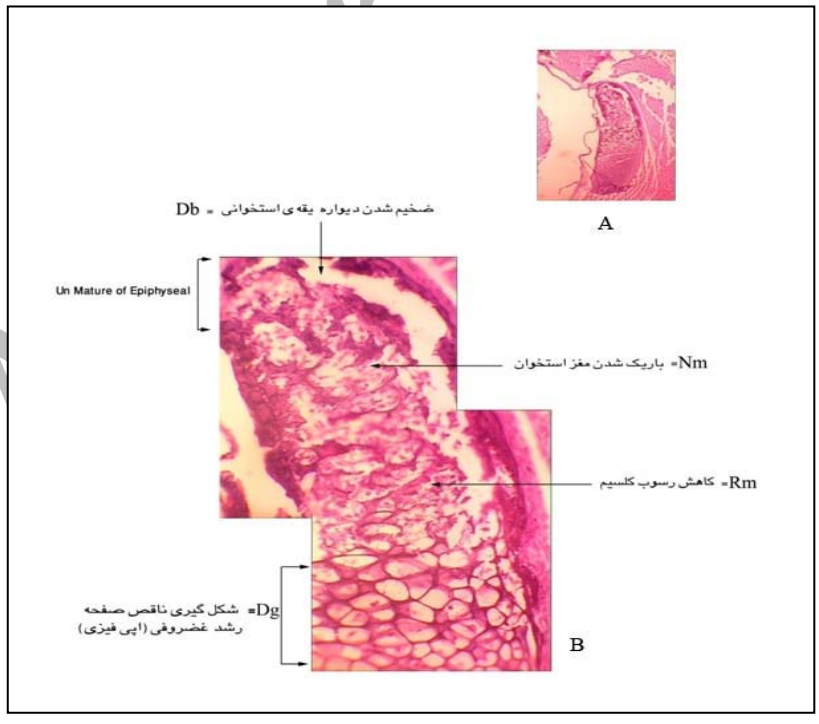
Archive of SID

www.SID.ir

تست غیر پارامتری (non parametric) اسـت، اسـتفاده شد. به علاوه در آنالیز آماری داده ها، $p< 0.05$ به عنوان سطح معنی داری بین گروه هـا در نظـر گرفتـه شـد و در نهایت تمام نتایج بـه صـورت ± mean SEM گـزارش شدند.



شکل ۱: مقطعی از استخوان دراز اندام تحتانی جنین گروه شاهد با رنگ آمیزی H&E و با بزرگنمایی ۴× (A) و بزرگنمایی ۱۰۰× (B).
شکل استخوان، حفره مغز استخوان، یقه استخوانی، صفحه اپی فیزی و میزان رسوب ماده معدنی استخوان به طور طبیعی قابل مشاهده است.



شکل ۲: مقطعی از استخوان دراز اندام تحتانی جنین گروه تیمار D (3.2g/kg/day) با رنگ آمیزی H&E و با بزرگنمایی ۴× (A) و بزرگنمایی ۱۰۰× (B).
شکل غیر طبیعی استخوان، باریک شدن حفره مغز استخوان، ضخیم شدن شدید دیواره یقه ی استخوانی، عدم شکل گیری صفحه های اپی فیزی در طرفین استخوان و کاهش شدید میزان رسوب ماده معدنی استخوان، نشان دهنده تکوین غیر طبیعی می باشد.

www.SID.ir

نتایج

مطالعات هیستوپاتولوژیکی که بر روی بافت استخوان دراز اندام تحتانی جنین موش صحرائی انجام گرفت نشان داد که بیشترین تغییرات بافتی در دوز ۳/۲ g/kg b.w قابل مشاهده است و از نظر آماری هم اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). البته این تغییرات در جنین مادران دریافت کننده دوزهای g/kg ۰/۸ b.w و ۱/۶ نیز قابل مشاهده بود. اما از نظر کیفی تأثیر عصاره در این دوزها در مقایسه با دوز g/kg ۳/۲b.w خفیف تر بود. در واقع اثر عصاره در دوزهای بالا شدید و در دوزهای پایین تر کمتر بود. طوری که در دوز ۳/۲g/kg b.w (گروه D) چون مقدار دوز مصرفی عصاره بالا بوده است، توانسته در همان مراحل اولیه تکامل استخوان شکل گیری بافتی آن را شدیداً تحت تأثیر قرار بدهد و سبب مختل شدن رشد و شکل گیری ناقص ساختمان و جزئیات بافتی استخوان دراز شود. که با اختلال مشخصی در تشکیل صفحه رشد غضروفی طرفین استخوان دراز، عدم رسوب ماده معدنی استخوان، ضخیم شدن شدید یقه ی استخوانی و باریک شدن حفره مغز استخوان قابل مشاهده بود. این تغییرات همگی گویای تغییر شکل (deformation) شدید بافتی در ساختمان استخوان دراز اندام عقبی جنین در مقایسه با گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). نتایج حاصل در شکل های با فتی ۱ و ۲ قابل مشاهده است. در بررسی های آماری نیز همانطور که در جدول ۱ و شکل ۳ آورده شده است، بین گروه کنترل و گروه با دوز g/kg b.w ۳/۲ اختلاف بالا و P<۰/۰۵ بود. در گروه g/kg b.w ۰/۸ و g/kg b.w ۱/۶ نیز اختلاف کمتر، اما معنی دار بود. در مقایسه بین دوز g/kg b.w ۳/۲ و g/kg b.w ۰/۸ نیز تغییرات بالایی قابل مشاهده بود.

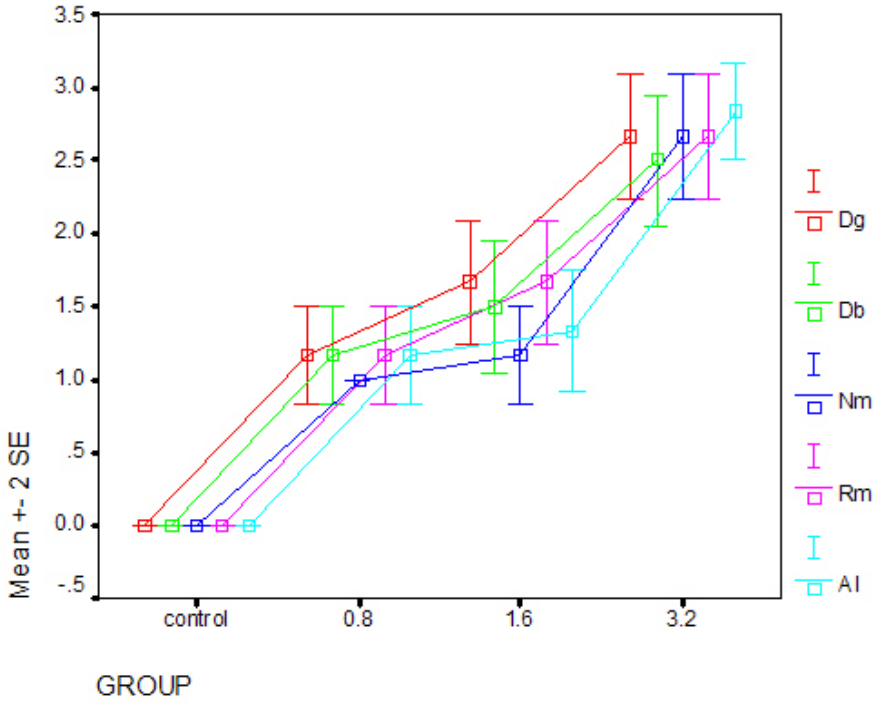
جدول ۱- توزیع متوسط تغییرات هیستوپاتولوژیک در گروه های مورد مقایسه

Factor / Group g/kg b.w	تغییرات هیستوپاتولوژیک (متوسط±استاندارد خطا ۹۵٪) (Mean ± SEM)				
	Dg (Deformation of growth cartilage plate)	Db (Deformation in Bone Collar)	Nm (Narrow of Bone Marrow)	Rm (Reduce Mineralization)	Al (Abnormal Long Bone form)
Control	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
0.8	1.16± 0.16*	1.16±0. 16*	1.00±0.00**	1.16±0. 16*	1.16±0.16**
1.6	1.66±0.21**	1.50±0.22**	1.66±0.16**	1.66±0.21**	1.33±0.21**
3.2	2.66±0.21**	2.50±0.22**	2.66±0.21**	2.66±0.21**	2.83±0.16**
تأثیر کلی	1.37±0.21**	1.29±0.20**	1.20±0.20**	1.37±0.21**	1.33±0.22**

p <0.01*
p <0.001**

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۳: مقایسه تغییرات هیستوپاتولوژیکی جنین بین گروه کنترل و سه دوز دریافت کننده عصاره (P<0.001). تغییرات مقادیر به صورت Mean ± 2 SEM نشان داده شده اند.

بحث و نتیجه گیری

گیاهان دارویی با کاربردها و خواص متعددی در طب سنتی و دارویی از دیرباز تا کنون در خیلی از مناطق و جوامع جهان کشت و استفاده شده اند. شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) نیز به عنوان یک گیاه دارویی یکساله، با اختصاصات معطر و خوشبو کننده به صورت چاشنی و افزودنی های دارویی و خوراکی در رژیم غذایی بسیاری از افراد گنجانده شده و تاکنون اثرات درمانی فراوانی نیز از آن بدست آمده که حاکی از اهمیت این گیاه در طب سنتی و گیاه درمانی است. اما در کنار فواید دارویی این گیاه شواهدی وجود دارد که نشان می دهد شنبلیله می تواند در پاره ای موارد، اثرات منفی از خود بروز دهد؛ به طور مثال مشاهده شده است که شنبلیله به دلیل اثر تحریک کنندگی ناشی از محتوای استروژن روی آندومتر رحم می تواند سبب تکامل غیرطبیعی جنین در خرگوش ماده شود [۷،۱۳،۱۷]. همچنین گفته شده است که شنبلیله به دلیل اجزاء تحریک کنندگی قوی روی رحم نباید در طی دوران حاملگی مصرف شود [۲۱] و یا اینکه رژیم غذایی حاوی ۳۰٪ دانه شنبلیله سبب ایجاد فعالیت ضد لقاحی در هر دو جنس خرگوش های نر و ماده می شود [۹].

از آنجائیکه دوران اندام زایی جنین به ویژه مرحله تشکیل جوانه اندام یکی از حساس ترین مراحل نمو جنینی نسبت به عوامل تراتوژن وسمیت زا است و تا کنون گزارشی مبنی بر سمی بودن عصاره آبی برگ این گیاه روی جزئیات بافتی استخوان دراز اندام عقبی دریافت نشده بود و از طرف دیگر، استعمال آن از حیث دارویی و تغذیه ای در نزد خیلی از افراد متداول می باشد، از این رو در مطالعه فعلی سعی کردیم با پرداختن به این مهم به بررسی اثر سمیتی ناشی از تزریق درون صفاقی عصاره آبی برگ گیاه در یک نوبت در روز دهم

Archive of SID
www.SID.ir

حاملگی روی روند تکوین استخوان در اندام های جنین بپردازیم. بطوریکه در مطالعه فعلی نشان داده شد که در جنین موش های درمان شده با عصاره ی آبی برگ گیاه شنبلیله (TGLE)، اختلال مشخصی در جزییات بافتی ساختار و رشد استخوان دراز اندام تحتانی طی روند استخوانی شدن داخل غضروفی به وجود آمد که منجر به شکل گیری غیرطبیعی استخوان دراز (Al)، عدم شکل گیری صفحه رشد غضروفی (Dg)، عدم شکل گیری یقه ی استخوانی (Db)، کاهش رسوب ماده معدنی استخوان (Rm) و باریک شدن حفره مغز استخوان (Nm) گردید.

در سطح هیستوپاتولوژیک تغییرات ناشی از تأثیر عصاره به صورت وابسته به دوز روی جزئیات بافتی ساختار و رشد استخوان دراز اندام تحتانی جنین دیده شد. در واقع تغییرات هیستوپاتولوژیکی (g/kg b.w ۰/۸، ۱/۶ و ۳/۲) به ترتیب به صورت خفیف، متوسط و شدید در نظر گرفته شد. بطوریکه نتایج ما نشان داد، TGLE در دوز ۳/۲ g/kg b.w سبب بروز اختلال شدید و معنی داری در ساختمان و رشد طولی استخوان دراز اندام تحتانی و همچنین عدم تقارن در شکل گیری صفحات رشد غضروفی در طرفین استخوان دراز جنین در مقایسه با گروه کنترل می شود (P<۰/۰۵). همچنین نتایج حاصل از این مطالعه بیان کننده اختلالات مشخصی در ساختار و رشد مورفولوژیکی (ناحیه اپی فیزی و دیافیزی) بافت استخوان در معرض با عصاره TGLE است.

بر طبق یافته های حاصل از این تحقیق دریافتیم که مصرف عصاره TGLE به تنهایی و بدون استعمال هر گیاه دارویی دیگری به طور همزمان در جنین موش صحرایی می تواند به صورت وابسته به دوز (dose-response) دارای اثرات مضری (harmful) روی نمو جنینی استخوان دراز اندام عقبی طی روند استخوانی شدن داخل غضروفی در جنین موش صحرایی باشد.

اما از آنجاییکه تاکنون مکانیسم های مولکولی مرتبط با ایجاد اینگونه اختلالات ناخواسته شناخته نشده اند و با توجه به آنچه که در مورد فرایند های مولکولی تکوین درون غضروفی استخوان می دانیم، لذا انجام تحقیقات بیشتر جهت بررسی واکنش ها و روند های غیر طبیعی که این چنین مکانیسم هایی را در جنین به راه می اندازند، ضروری به نظر می رسد.

بر طبق شواهد به دست آمده دریافت درون صفاقی عصاره گلیکوزیدی برگ شنبلیله سبب بروز اثرات سمیتی مشخصی روی سیستم عصبی مرکزی (CNS) در موش بالغ می شود که افزایش در میزان دوز دریافتی عصاره نیز منجر به افزایش شدت عملکرد عصاره روی CNS و نهایتاً مرگ حیوان می شد [۳]. لذا پیشنهاد می کنیم در مطالعات آینده تأثیر عصاره گلیکوزیدی برگ این گیاه روی تکامل اندام های حرکتی جنین بررسی و یافته های آن با نتایج مطالعه فعلی مقایسه گردد.

بر طبق مطالعات به دست آمده فلاونوئیدهای موجود در عصاره دارای اختصاصات آپاپتوزی مشخصی در سلول های سرطانی هستند. بنابراین می توانند دارای فعالیت ضد سرطانی قابل ملاحظه ای باشند [۸]. همچنین به دست آمده که ساپونین ها، فیبر و فلاونوئیدها دارای اثرات تحریک کنندگی ایمنی قوی هستند[۲۰]. بنابراین اگرچه اجزاء فعال بسیاری از عصاره به دست آمده اما تا کنون مطالعه ای مبنی بر شناسایی آن جزء سمی از عصاره که سبب بروز چنین اختلالاتی در ساختمان بافتی استخوان دراز جنین می شود، گزارش نشده بنابراین به منظور روشن شدن قسمتی از مکانیسم های سمیتی این گیاه در دوران بارداری ضرورت دارد در مطالعات آینده روی شناسایی و جداسازی این اجزاء فعال از عصاره نیز مطالعه شود.

بر اساس شواهد به دست آمده رشد طولی استخوان که در صفحه رشد اتفاق می افتد، توسط مجموعه مشخصی از سیگنال های آندوکرینی همچون استروژن، آندروژن، گلوکوکورتیکوئید، فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-1)، لپتین، هورمون رشد و ویتامین D تنظیم می شود [۱۹] و از آنجاییکه ممکن است عصاره با اختلال در روند این سیگنال ها و مسیرها سبب بروز چنین اثرات نامطلوبی روی ساختمان بافتی استخوان دراز جنین در

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه فعلی شده باشد، لذا پیشنهاد می کنیم در مطالعات گسترده تری به بررسی این موضوع نیز پرداخته شود.

صفحه رشد دارای ۴ منطقه بافتی شاخص است که با منطقه استراحت شروع می شود و با مناطق تکثیر و هیپرتروفی وسعت می یابد سرانجام در منطقه استخوان سازی کندروسیت ها می میرند و به ماتریکس استخوان (جایی که رشد طولی استخوان در آن اتفاق می افتد) تغییر می یابند. شواهدی وجود دارد که تأثیر چندین عامل از جمله پروتئین زرده تخم مرغ (YSP) [۱۶]، استروژن [۱۱]، پروتئین-۲ مورفوژنز استخوان (BMP-2) [۱۲]، کافئین و Exercise [۱۵] را بر روی افزایش رشد طولی استخوان نشان می دهد. همچنین در مطالعه دیگری تأثیر مکانیسم های تنظیمی فاکتورهای غذا در متابولیسم استخوان و مهار استئوپوروزیس مورد بررسی قرار گرفته است [۱۸]. و از آنجاییکه شنبلیله سبب بروز اختلالات مشخصی در دوران حاملگی می شود، لذا احتمال می دهیم مصرف هر یک این مواد به طور همزمان با شنبلیله بتواند دارای اثرات محافظتی مؤثری روی شکل گیری و رشد طبیعی استخوان دراز جنین طی تکامل اندام تحتانی باشد و این موضوع می تواند الهام بخش تحقیقات بیشتر در این زمینه باشد.

بر طبق مطالعه فعلی پیشنهاد می کنیم که Trigonella foenum – graecum در دوز ۳/۲ g/kg b.w دارای اثرات توکسیسیته روی تکامل استخوان دراز از نظر شکل، جزئیات بافتی ساختار و رشد سلول، عدم شکل گیری کامل صفحه رشد غضروفی در طرفین آن و نهایتاً اختلال در روند استخوانی شدن داخل غضروفی استخوان دراز اندام تحتانی در جنین موش صحرایی باشد. اما مطالعات و بررسی های بیشتری برای تعمیم اثرات این گیاه بر روی انسان ضرورت دارد. اما بر طبق یافته های حاصل، توصیه می شود زنان باردار از مصرف بالای این گیاه به تنهایی در طی دوران بارداری، به ویژه ۳ ماهه اول بارداری خود داری کنند تا از عوارض وخیم و سوء احتمالی آن بر روی مراحل تکاملی و نموی جنین خود مصون باشند.

گیاهان دارویی جهت مصارف دارویی و درمانی در نوع خود بی نظیر هستند اما بر طبق مطالعه حاضر همیشه نمی توان مصرف این گیاهان به ویژه شنبلیله را بدون تأثیر سمیتی آن در نظر گرفت. در واقع مصرف این گیاهان در کنار اثرات درمانی فراوانشان، ممکن است دارای عوارض مضری به ویژه در دوران بارداری باشند. بنابراین بررسی این اثر به منظور جلوگیری از بروز اختلالات ناخواسته و به دنبال آن انجام درمان های قطعی تر در مطالعات in vitro ضروری به نظر می رسد. اما از آنجائی که بررسی ها در این زمینه اندک است لذا پیشنهاد می کنیم مطالعات گسترده تری صورت گیرد، تا صحت آن حتی در موضوع انسانی نیز به قطعیت برسد.

منابع

۱. زرگری، ع.، ۱۳۷۲، *گیاهان دارویی*، جلد اول ، انتشارات دانشگاه تهران

۲. میرحیدر، ح.، ۱۳۷۲، معارف گیاهی، جلد اول، انتشارات نشر فرهنگ اسلام

3. Abdel- Barry, J.A., Al- Hakiem, M.H.H., 2000, Acute Intraperitoneal and oral toxicity of the leaf glycosidic extract of Trigonella foenum - graecum in mice. J Ethnopharmacol, 70, 65-68.
4. Abdel-Barry, J.A., Abdel- Hassan, I.A., Al- Hakiem, M.H.H., 1997, Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effects of Trigonella foenum - graecum leaf in normal and alloxan induced diabetic rat. J Ethnopharmacol, 58,149-155.
5. Abdo, M.S., al-Kafawi, A.A., 1969, Experimental studies on the effect of Trigonella foenum-graecum. Planta Med, 17, 14-18.
6. Ahmadiani, A., Javan, M., Semnanian, S., Barat, E., Kamalinejad, M., 2001, Anti - inflammatory and antipyretic effects of Trigonella foenu-graecum leaves extract in the rat. J Ethnopharmacol, 75, 283-286.
7. AL-Hamood, M.H., AL–Bayatti, Z.F., 1995, Effect of Trigonella

Archive of SID

www.SID.ir

foenum-graecum, Nerium oleander and Ricinus communis on reproduction in mice. Iraqi J Sci, 36, 436.

8. Amin, Amr, Alkaabi, Aysha, AL-Falasi, shamaa, Daoud, Sayel A., 2005, Chemopreventive activities of Trigonella foenum graecum (Fenugreek) against breast cancer. Cell Biol Int, 29, 687-694.
9. Amira, Kassem, Al-Aghbari, Abdulwali, Al-Habori, Molham, AL-Mamary, Mohammad, 2006, Evaluation of the potential antifertility effect of fenugreek seeds in male and female rabbits.Contraception, 73, 301-306.
10. Bin-Hafeez, Bilal, Rizwanul Haque, A., Raisuddin, S., 2003, Immunomodulatory effects of fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) extract in mice. Int Immunopharmacol, 3, 257-265.
11. Chagin, A.S., Chrysis, D., Takigawa, M., Ritzen, E.M., Savendahl, L., 2006, Locally produced estrogen promotes fetal rat metatarsal bone growth; an effect mediated through increased chondrocyte proliferation and decreased apoptosis. J. Endocrinol, 188, 193-203.
12. De Luca, Francesco, Barnes, Kevin M., Abad, Veronica, 2001, Regulation of Growth Plate Chondrogenesis by Bone Morphogenetic Protein. Endocrinology, 142, 430-436.
13. Elbetieha, A., AL-Hamood, M.H., AL-Kofahi, A, 1996, Anti–implantation potential of some medicinal plants in female rats, Arch STD/HIV. 10, 181-187.
14. Ethan Basch, M.D., Catherine Ulbricht Pharm, D., Grace Kuo Pharm, D., 2003, Therapeutic Applications of Fenugreek. Alternative Medicine Review, 8, 20-27.
15. Haung, T.H., Liu. S.H., 2002, Effects of Caffeine and Exercise on the development of Bone: A Densitometric and Histomorphometric Study in Young Wistar Rats. Bone, 30, 293-299.
16. Kang-Hyun, Leem, Myung-Gyou, Kim, Hyun-Mi, Kim, Mujo, Kim, Young-Ja, Lee, Hye-Kyung, Kim., 2004, Effects of Egg Yolk Proteins on the Longitudinal Bone Growth of Adolescent Male Rats. Biosci. Biotechnol. Biochem, 68, 2388-2390.
17. Khare, A.K., Sharma, M.K., Bhatnagar, V.M., 1983, Mild anti-fertility effect of ethereal extract of seed of Trigonella foenum – graecum (Methi) in rats, Arogya. J Health Sci, IX, 91-93.
18. Masayoshi, Yamaaguchi, 2006, Regulatory Mechanism of Food Factors in Bone Metabolism and Prevention of Osteoporosis. The Pharmaceutical Society of Japan, 126, 1117-1137.
19. Nilsson, O., Marino, R., De Luca, F., Phillip, M., and Baron, J., 2005, Endocrine regulation of the growth plate. Horm. Res, 64,157-165.
20. Raghuram, T.C., Sharma, R.D., Sivakumar, B., Sahay, B.K., 1994, Effect of fenugreek seeds on intravenous glucose disposition in non-insulin diabetic patients. Phytother Res, 8, 83
21. Shang, M.Y., Cai, S.Q., Lin, W.H., Wang, M.C., Park, J.H., 2002, Studies on chemical constituents from the seed of Trigonella foenum-graecum. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 27, 277-279.
22. Shani, J., Gold Schmied, A., Ahronson, Z., Sulman, F.G., 1974, Hypoglycaemic effect of Trigonella foenum-graecum and Lupinus termis (Leguminosae) seeds and their major alkaloids in alloxan diabetic and normal rats. Arch International

Archive of SID

www.SID.ir

Pharmacodynamics Therapy, 210, 27-36.

23. Sharma, R.D., 1986, Effect of fenugreek seeds and leaves on blood glucose and serum insulin responses in human subject. Nutr Res, 6, 1353-1364.

Archive of SID

www.SID.ir