



اثرات بیولوژیک عصاره‌ی آبی گیاه افدرا ماژور بر رشد و نمو کمی جنین‌های موش Balb/C در روزهای هفتم تا دهم بارداری

صفورا صفاری، پروین ترابزاده*، سید مرتضی موسوی دهبویی

گروه زیست‌شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
*مسئول مکاتبات: p.torabzadeh@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۵

چکیده

عصاره آبی گیاه افدرا ماژور در درمان فشار خون، اختلال خواب و کاهش وزن موثر می‌باشد. اما تاکنون اثرات آن بر روی بدن بخصوص در دوران حاملگی مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین در این پژوهش اثرات تراتوژنیک عصاره ی گیاه افدرا ماژور بر جنین های موش Balb/C در روزهای هفتم تا دهم حاملگی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ۵۰ سر موش ماده Balb/C بطور تصادفی به شش گروه مساوی، کنترل (عدم تزریق)، شم (تزریق آب مقطر) و ۴ گروه تجربی تقسیم شدند. دوز کشنده LD50 در شرایط *in vivo* ۳۰۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر وزن بدن تعیین و دوز مناسب برای تزریق ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شد. تزریقات در روزهای هفتم تا دهم بصورت درون صفاقی انجام گرفت. سپس موش‌ها در روز ۱۵ بارداری تشریح شدند و جهت اطمینان از نتایج، تجربیات فوق ۳ بار تکرار شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 21 و تست Duncan با شرط $p < 0/001$ مورد سنجش قرار گرفت. پس از بررسی مقایسه ای در این دوز شاهد کاهش معنی داری $p < 0/001$ در اندازه فرق سر-نشیمناهی (CR)، وزن جنین و وزن جفت گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل و شم بودیم. با توجه به این مشاهدات می‌توان این طور نتیجه گرفت که عصاره آبی گیاه افدرا ماژور اثرات منفی بر رشد و نمو کمی جنین داشته و استفاده از این گیاه در دوران بارداری خطرآفرین است و شاید بتوان در آینده از آن به عنوان قرص ضد بارداری استفاده نمود.

کلمات کلیدی: افدرا ماژور، وزن جنین، وزن جفت، جنین موش.

مقدمه

دید بهتر بتوانند از این گیاهان استفاده کنند و با اثرات جانبی آن نیز آشنایی داشته باشند. اگر به گیاهان دارویی با دید علمی‌تری بنگریم می‌توان گفت در آینده با شناسایی خواص این گیاهان، و شناسایی مواد موثر درون آنها بتوان از این گیاهان به طور کلینیکی استفاده و نیز داروهایی با استانداردهای پزشکی تهیه کرد. در ایران به صورت طب سنتی از گیاهان دارویی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود، با توجه به این که ایران دارای اقلیم آب و هوایی بسیار متفاوتی می‌باشد این گیاهان دارویی در اکثر نقاط ایران یافت می‌شوند. نکته قابل توجه در این باره اثرات سوء استفاده‌ی نادرست از این گیاهان می‌باشد [۱۲]. یکی از این گیاهان دارویی که در طب سنتی از آن

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان با تاریخ زندگی انسان هم زمان بوده است. انسان در تمام دوران تاریخی چاره ای جز استفاده از گیاهان نداشت. اگر چه در نیم قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و ترکیبی به شدت رواج یافت ولی به سرعت آثار زیان بار آن‌ها بر زندگی بشر سبب گرایش مجدد به گیاهان دارویی گردیده است، و این نکته که مصرف گیاهان دارویی همواره در طول تاریخ یکی از روش‌های موثر درمان بوده است، به خوبی روشن است. امروزه در بین اقشار مختلف جامعه گیاهان دارویی نقش مهمی در درمان بیماری‌های مختلف دارند که این مستلزم آشنایی بیشتر افراد با خواص دارویی و خواص ضدسلامتی این گیاهان می‌باشد که این افراد با



این تیره را در حد واسط نهاندانگان و بازدانگان قرار داده- اند. خانواده افدراسه با نام‌های فارسی (ارمک، ریش بز) و نام لاتین (*Ephedra major*) و نام های محلی (هوم، سوما، کچی سقلی) در حدود ۵۰ گونه متفاوت داشته که گیاهی پایا، با بوته‌هایی درختچه‌ای و ساقه‌هایی به رنگ سبز تیره به صورت غلاف‌غشایی و سفید رنگ، و گل- های منفرد یا مجتمع، میوه رسیده آن مدور یا تخم مرغی با براکته های گوشتی قرمز یا متمایل به زرد می باشد. زمان گل‌دهی گیاه افدرا ماژور در اردیبهشت ماه و اوایل تابستان و زمان رسیدگی میوه‌ها در تابستان می‌باشد و این گیاه در نقاط مختلف ایران و جهان دیده شده است. این گیاه در قسمت‌های غربی آمریکا و جنوب شرقی این قاره و در قسمت شمال شرق قاره ی آفریقا و در قاره آسیا در کل منطقه‌ی خاورمیانه و فلات چین به سمت شبه جزیره- ی کره تا امتداد دریای ژاپن این خانواده وجود دارند و در ایران در مناطق تهران، اصفهان، خراسان در مناطق قوچان، ارتفاعات هزار مسجد، فارس، لرستان، مازندران، همدان، کرمان و گیلان یافت می‌شود [۲۲، ۱۱]. از جمله ترکیبات الکلوئیدی عصاره ی افدرا می‌توان به متانوپرولین، افدرین و پزودوافدرین از اجزای فعال افدرا هستند که معمولاً به عنوان ضداحتقاق مورد استفاده قرار می‌گیرد. افدرین و پزودوافدرین به صورت دارویی باعث تحریک گیرنده‌های آلفا و بتا آدرنژیک و آزادسازی کاتکول آمین‌های درون زای سیناپس‌ها در مغز و قلب می‌شود. ترکیب متانوپرولین *cis-3,4-methanoproline* در مقادیر زیادی در میوه، ساقه و ریشه گیاه افدرا یافت می‌شود. این ماده آنالوگ پرولین برای *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* است. اثر سمی این ترکیب بر این میکروارگانیسم‌ها بوسیله ممانعت از سنتز پرولین اعمال می‌شود. کینورنات‌ها (*Kynurenates*) در ساقه‌های افدرا وجود دارند و ممکن است واجد خواص ضد میکروبی باشند. کینورنات‌ها مرتبط با *quinolones* 4 هستند، گروهی از ترکیبات که توانایی ممانعت از فعالیت *gyrase* DNA باکتریایی را دارا هستند. به عنوان مثال

به عنوان دارویی گیاهی یاد می‌شود گیاه ریش بز یا افدرا ماژور (*Ephedra major*) می‌باشد که برای درمان بیماری‌ها از آن استفاده می‌شود. در این پژوهش سعی بر آن بوده که اثرات بیولوژیک عصاره‌ی آبی گیاه افدرا ماژور را مورد بررسی قرار دهیم. امید است این پژوهش گامی باشد برای تهیه و استفاده‌های درست دارویی از این گیاه طبیعی و شناسایی بیشتر خواص دارویی این گیاه، تا بتوان به صورت صحیح از این گیاه در پزشکی مدرن استفاده نماییم.

مطالعات بسیاری بر روی خواص بیولوژیکی مواد موثره موجود در این گیاه انجام شده و اثرات آن بر روی سیستم قلبی و عروقی و افزایش فشار خون، سیستم تنفسی و مجاری هوایی [۵]، سیستم عصبی مرکزی و افزایش سطح هوشیاری [۲۰] و کاهش وزن [۱۷] و همچنین اثرات ضد ویروسی، ضد باکتریایی [۱۸] آن به تائید رسیده است. به طور مثال *Eglyferesin* و همکارانش در سال ۲۰۰۱ به این نتیجه رسیدند که این گیاه افدرا دارای اثرات باز دارندگی بر فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌ها است [۶]. *Rustaiyan* و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در فعالیت پژوهش خود نشان دادند که این گیاه فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نیز دارد [۱۶]. *Boozer* و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان کردند عصاره گیاه افدرا همراه با کافئین سبب کاهش وزن بدن، چربی بدن و *LDL*-کلیسترول و همچنین سبب افزایش *HDL*-کلیسترول و ضربان قلب می‌گردد [۴]. *Al-Qarawi* و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به این نتیجه رسیدند که از پودر گیاه افدرا می‌توان به عنوان یک کنترل‌کننده غیرشیمیایی، آلودگی افلاتوکسین استفاده کرد [۱]. اما با این حال هیچ پژوهشی بر اثرات این گیاه روی جنین و اثر آن بر روی روند شکل‌گیری جنین انجام نشده است. بدین دلیل هدف اصلی این پژوهش بررسی اثرات بیولوژیک عصاره ی آبی گیاه افدرا ماژور بر رشد و نمو جنین‌های موش *Balb/C* در روز های هفتم تا دهم بارداری است. گیاه افدرا ماژور به خانواده *Ephedraceae* از راسته *Ephedrals* تعلق دارد که برخی از گیاه شناسان



مواد و روش کار

در این پژوهش پس از جمع‌آوری قسمت هوایی گیاه افدرا از کوه‌های کلاک واقع در استان البرز، گیاه به مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتاق آزمایشگاه دانشگاه کرج نگهداری و به دور از نور خورشید خشک شد. پس از خشک شدن کامل، گیاه توسط آسیاب برقی به صورت پودر در آورده شد. به منظور تهیه عصاره آبی مقدار ۱۰۰۰ میلی‌گرم پودر قسمت هوایی گیاه در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت یک ساعت آهسته جوشانده شد. سوسپانسیون حاصله از صافی پارچه ای و بعد توسط کاغذ صافی معمولی و پس از آن به منظور به دست آوردن محلول شفاف از کاغذ صافی واتمن شماره یک توسط قیف بوخنر تحت شرایط خلاء عبور داده شد. محلول در حرارت ملایم تغلیظ گردید تا حجم نهایی آن به ۲۰ میلی‌لیتر رسید. به این ترتیب عصاره آبی گیاه به دست آمد که در هر میلی‌لیتر آن عصاره ۵۰ میلی‌گرم پودر قسمت هوایی گیاه را دارا بود. جهت بررسی اثرات بیولوژیک عصاره آبی گیاه، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی که مانند انسان مواد شیمیایی را از جفت عبور داده و دارای سیر تکوینی مشابهی در جنین خود نسبت به انسان می‌باشند، استفاده گردید. کوچکی اندازه، کوتاه بودن دوره حاملگی و ایجاد جنین‌های متعدد در هر بار زایمان از مزایای استفاده از این نوع نژاد در کار تحقیقاتی مورد نظر بود. موش‌های آزمایشگاهی از موسسه سرم و واکسن سازی حصارک کرج خریداری با رعایت شرایط حرارتی 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و پریرود نوری ۱۲ ساعت شب و ۱۲ ساعت روز با رطوبت ۵۰ تا ۶۰ درصد به مدت دو هفته برای سازش با شرایط محیطی جدید در قفس‌های مخصوص موش‌های کوچک آزمایشگاهی در اتاق حیوانات دانشگاه کرج نگهداری شدند. قفس موش‌ها هر هفته به طور مرتب شست و شو و ضدعفونی می‌شدند. در این مطالعه ۵۰ سر موش به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی، کنترل (عدم تزریق)، شم (تزریق آب مقطر) و ۴ گروه تجربی تقسیم شدند. گروه‌ها

سیپروفلوکساسین از این گروه بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم منفی شامل نایسریا گونورها که سبب عفونت ادراری می‌شود استفاده می‌شوند [۱۹].

با توجه به مطالعات انجام شده، شواهد حاکی از آن است که مهم‌ترین ماده موثره گیاه افدرا ماژور بنام افدرین است که بر قسمت‌های مختلف بدن اثرگذار است. از نظر بیوشیمیایی مهم‌ترین مواد موجود در گیاه افدرا ماژور الکالوئیدها هستند [۱۰] و مهم‌ترین الکالوئید موجود در گیاه افدرا ماژور افدرین می‌باشد که از گروه الکالوئیدهای آمینی فاقد اتم ازت در حلقه‌ی هتروسیکلیک است.

آلکالوئیدهای آمینی در اکثر موارد از مشتقات ساده فینیل آمین بوده و از این رو از اسید آمینه معمولی مانند فینیل آلانین و یا تیروزین مشتق می‌شوند [۲].

افدرین، آلکالوئیدی است که به مقدار زیاد از انواع گیاهان افدرا به روش‌های شیمیایی که شامل احیاء و ترکیب ال-۱-استیل کاربینول و متیل آمین است بدست می‌آید. بدین طریق می‌توان ال-افدرین خالص بدست آورد. افدرین در گیاه افدرا معمولاً به صورت چپ‌گرد وجود دارد که به صورت یک آمینوالکل بوده و فرمول شیمیایی آن در (شکل ۲) نشان داده شده است و البته خیلی نزدیک به فرمول شیمیایی آدرنالین است.

از اثرات بیولوژیکی افدرین می‌توان به اثر بر روی کاهش و افزایش وزن و اثر بر روی قلب که در اثر انقباض عروق باعث فشارخون، تاکی کاردی و آتاکسی می‌شود و همچنین به اثر بر روی سیستم اعصاب مرکزی مانند لرزش، تشنج، سرگیجه، سردرد، اضطراب و بی‌خوابی اشاره کرد. علاوه بر افدرین، الکالوئیدهای دیگری از جمله پزودوافدرین، نورافدرین، نورپزودوافدرین، متیل افدرین و متیل پزودوافدرین در گیاه افدرا یافت می‌شود.

مقدار الکالوئیدها بر حسب منشا جغرافیایی، شرایط اقلیمی، زمان برداشت محصول متفاوت می‌باشد و معمولاً مقدار افدرین چپ و پزودوافدرین راست از سایر آلکالوئیدها بیشتر است [۲۱].



شامل میانگین، انحراف معیار و آنالیز واریانس مشخص شده است.

نتایج

به منظور مشخص نمودن دوز آستانه‌ای جهت تزریق عصاره آبی گیاه برای انجام تجربیات آزمایشگاهی، ناگزیر به تعیین مقدار دوز کشنده عصاره آبی گیاه افدرا بودیم. لذا با استفاده از روش انتگراسیون دوبل مقدار LD50 در شرایط آزمایشگاهی 3086 mg/kg.bw تعیین گردید. به طوری که ۶ سطح دوز مصرفی را بر اساس افزایش ضریب ثابت هندسی $1/143$ با انتخاب مقدار اولیه 300 mg/kg.bw مشخص نمود و تجربیات را بر دو گروه تجربی و کنترل با انتخاب ۴ موش ماده در هر گروه ادامه دادیم. تجربیات LD50 بر ۵۰ موش ماده بالغ ۲۲ تا ۲۸ گرمی انجام گرفت. به طوری که به گروه تجربی یکی از سطوح عصاره و به گروه کنترل محلول سرم فیزیولوژی به صورت درون صفاقی تزریق گردید. در هنگام تزریق به منظور به دست آوردن دوز استاندارد LD50 بلافاصله بعد از تزریق عصاره آبی، ماهیچه‌های شکم به شدت منقبض گشته و موش‌ها آرام و بی حرکت می‌ماندند و اگر منجر به مرگ موش نمی‌شد بعد از گذشت ۲ الی ۳ ساعت موش‌ها به حالت عادی باز می‌گشتند در حالی که این حالات در هنگام تزریق با سرم فیزیولوژی مشاهده نمی‌شد. پس از بررسی‌های اولیه، جهت اطمینان از میزان مسمومیت و اختلال عملکرد در سطح سلولی، بافتی و اندامی، عصاره آبی را به میزان 300 mg/kg.bw به روش درون صفاقی در روزهای هفتم، هشتم، نهم، دهم بارداری یعنی روزهای بعد از لانه‌گزینی و اندام‌زایی تزریق کردیم. برای بررسی‌های مقایسه‌ای در هر گروه ۱۵ موش حامله در گروه کنترل که چیزی به آنها تزریق نشد و هم چنین به تعداد ۱۵ موش حامله گروه شاهد (Sham) در نظر گرفته شد که به این موش‌های باردار سرم فیزیولوژی ۱۰ درصد تزریق گردید. جنین‌های تجربی، کنترل و Sham در روز ۱۵ حاملگی از بدن مادر خارج گردید. و پس از وزن

از لحاظ نوع آب و غذا و تمامی شرایط زندگی یکسان بودند. به منظور تعیین نمودن روزهای مشخص حاملگی، موش‌های نر و ماده بالغ $2/5$ تا ۳ ماهه با وزن ۲۴ تا ۲۸ گرم برای آمیزش به روش پلی‌گامی در قفس‌های ویژه موش‌های کوچک آزمایشگاهی قرار داده شد و با مشاهده درپوش واژنی، که روز صفر بارداری در نظر گرفته می‌شود، موش‌های ماده را از موش‌های نر جدا نموده و در قفس‌های جداگانه ای نگهداری شدند. به منظور بررسی‌های بیولوژیکی اثرات عصاره آبی گیاه افدرا ماژور ابتدا مقدار دوز کشنده (LD50) با استفاده از روش انتگراسیون دوبل در شرایط $3086 \text{ mg/kg.bw, in vivo}$ تعیین گردید و عملیات تزریق درون صفاقی (IP) سریع و با کمترین استرس‌زایی در روزهای هفتم تا دهم بارداری با دوز 300 mg/kg.bw انجام گردید. کلیه موش‌ها در روز ۱۵ بارداری به کمک کلروفورم به صورت استنشاقی کشته و بلافاصله بعد از مرگ، تشریح شدند.

جنین‌های داخل رحم به کمک لوازم مخصوص تشریح خارج و در محلول سرم فیزیولوژی قرار داده می‌شد، سپس کیسه آمیون اطراف جنین‌ها به دقت جدا می‌گردید. پس از شست و شوی جنین‌ها در سرم فیزیولوژی، به کمک کولیس طول فرق سر- نشیمنگاهی (CR) اندازه‌گیری شد و توسط ترازوی دقیق وزن جنین و جفت‌ها تعیین و یادداشت گردید. به منظور بررسی‌های هیستولوژیکی و سیتولوژیکی از میکروسکوپ دوچشمی نوری و استریوفتو میکروسکوپ با بزرگنمایی $\times 100$ و X28 استفاده شده است. برای اثبات کاهش یا افزایش اندازه (CR) و وزن جنین و جفت و تغییر وضعیت رحم و میومتر پس از تشریح هر موش نمونه‌های تجربی با گروه‌های کنترل و شم مقایسه شده است. جهت آنالیز آماری نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس یک عاملی استفاده گردید. تجربیات فوق ۳ بار تکرار شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS21 و تست Duncan با شرط $p < 0.001$ مورد سنجش قرار گرفت. تمامی شاخص‌های مورد نظر



کردن جنین و جفت و بررسی‌های ماکروسکوپی که توسط استریوفتومیکرگراف انجام گردید. در مجموع موش ماده بالغ باردار پس از تزریق عصاره و تشریح مورد بررسی قرار گرفت و نتایج مشخص نمود که کاهش در اندازه فرق سر- نشیمنگاهی (CR)، وزن جنین و جفت گروه تجربی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم وجود داشته است ($p < 0/001$). نتایج تحلیل آماری و تجربیات روز هفتم تا دهم ($X \pm SD$) با دوز تزریقی $mg/kg.bw$ ۳۰۰ به صورت جدول تهیه شده است، این روند کاهش در اندازه فرق سر- نشیمنگاهی، وزن جنین و جفت گروه تجربی را در مقایسه با گروه‌های کنترل نشان می‌دهد. نتایج کلی بدست آمده از بررسی‌های جداول ۱ تا ۴ را می‌توان این گونه بیان کرد که تغییرات کمی، همراه با روند کاهشی در رشد و نمو جنین‌های تجربی ۱۵ روزه با دوز تزریقی $mg/kg.bw$ ۳۰۰ مشاهده شده است. به طور مثال در اندازه فرق سر- نشیمنگاهی در روز ۷ حاملگی ($0/9 \pm 13/66$ mm) روز ۸ حاملگی ($0/839 \pm 13/66$ mm) روز ۹ حاملگی ($0/222 \pm 0/142$ گرم) نسبت به گروه‌های کنترل مربوطه ($0/005 \pm 0/158$ گرم)، مشخص است.

روز ۹ حاملگی ($0/935 \pm 14/06$ mm)، روز ۱۰ حاملگی ($0/936 \pm 13/95$ mm) با گروه‌های کنترل مربوطه ($0/885 \pm 15/28$ mm)، مشخص نموده که کاهش معنی دار ($p < 0/001$) وجود دارد. البته کاهش معنی دار ($p < 0/001$) در سطح وزن جنین‌های تجربی با نتایج وزن جنین در روز ۷ حاملگی ($0/315 \pm 0/051$ گرم)، روز ۸ حاملگی ($0/499 \pm 0/29$ گرم)، روز ۹ حاملگی ($0/42 \pm 0/335$ گرم)، روز ۱۰ حاملگی ($0/455 \pm 0/345$ گرم) نسبت به گروه‌های کنترل مربوطه ($0/211 \pm 0/48$ گرم) قابل توجه بود و هم چنین کاهش معنی دار ($p < 0/001$) در سطح وزن جفت جنین‌های تجربی نیز مشاهده شد که وزن جفت در روز ۷ حاملگی ($0/089 \pm 0/113$ گرم)، روز ۸ حاملگی ($0/234 \pm 0/117$ گرم)، روز ۹ حاملگی ($0/244 \pm 0/105$ گرم)، روز ۱۰ حاملگی ($0/222 \pm 0/142$ گرم) نسبت به گروه‌های کنترل مربوطه ($0/005 \pm 0/158$ گرم)، مشخص است.

جدول ۱- نتایج تحلیل آماری درمورد جنین‌های تجربی روز ۷ حاملگی پس از تزریق عصاره آبی افدرا ماژور ($X \pm SD$)

مشاهدات	وزن جنین (گرم)	وزن جفت (گرم)	اندازه CR
گروه تجربی	$0/315 \pm 0/051$	$0/113 \pm 0/089$	$13/66 \pm 0/9$
گروه کنترل	$0/48 \pm 0/021$	$0/158 \pm 0/005$	$15/28 \pm 0/485$
گروه Sham	$0/468 \pm 0/017$	$0/149 \pm 0/0056$	$15/12 \pm 0/566$
p	$p < 0/001$	$p < 0/001$	$p < 0/001$

جدول ۲- نتایج تحلیل آماری درمورد جنین‌های تجربی روز ۸ حاملگی پس از تزریق عصاره آبی افدرا ماژور ($X \pm SD$)

مشاهدات	وزن جنین (گرم)	وزن جفت (گرم)	اندازه CR
گروه تجربی	$0/429 \pm 0/0499$	$0/117 \pm 0/234$	$14/93 \pm 0/839$
گروه کنترل	$0/48 \pm 0/021$	$0/158 \pm 0/005$	$15/28 \pm 0/485$
گروه Sham	$0/468 \pm 0/017$	$0/149 \pm 0/0056$	$15/12 \pm 0/566$
p	$p < 0/001$	$p < 0/001$	$p < 0/001$



جدول ۳- نتایج تحلیل آماری در مورد جنین های تجربی روز ۹ حاملگی پس از تزریق عصاره آبی افدرا ماژور (X±SD)

مشاهدات	وزن جنین (گرم)	وزن جفت (گرم)	اندازه CR
گروه تجربی	۰/۳۳۵ ± ۰/۰۴۲	۰/۱۰۵ ± ۰/۰۲۴۴	۱۴/۰۶ ± ۰/۹۳۵
گروه کنترل	۰/۴۸ ± ۰/۰۲۱	۰/۱۵۸ ± ۰/۰۰۵	۱۵/۲۸ ± ۰/۴۸۵
گروه Sham	۰/۴۶۸ ± ۰/۰۱۷	۰/۱۴۹ ± ۰/۰۰۵۶	۱۵/۱۲ ± ۰/۵۶۶
p	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱

جدول ۴- نتایج تحلیل آماری در مورد جنین های تجربی روز ۱۰ حاملگی پس از تزریق عصاره آبی افدرا ماژور (X±SD)

مشاهدات	وزن جنین (گرم)	وزن جفت (گرم)	اندازه CR
گروه تجربی	۰/۳۴۵ ± ۰/۰۴۵۵	۰/۱۴۲ ± ۰/۰۲۲۲	۱۳/۹۵ ± ۰/۹۳۶
گروه کنترل	۰/۴۸ ± ۰/۰۲۱	۰/۱۵۸ ± ۰/۰۰۵	۱۵/۲۸ ± ۰/۴۸۵
گروه Sham	۰/۴۸ ± ۰/۰۲۱	۰/۱۴۹ ± ۰/۰۰۵۶	۱۵/۱۲ ± ۰/۵۶۶
p	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱	p < ۰/۰۰۱

بحث

این پژوهش یک مطالعه پایلوت (مقدماتی) است که هدف اصلی در این تحقیق بررسی اثرات عصاره گیاهی افدرا ماژور بر روی متغیرهای مربوط به رشد و نمو جنین در طول روند بارداری موش بوده است. با توجه به اینکه پستانداران به سه زیر رده تخم‌گذاران، کیسه‌داران و جفت‌داران تقسیم می‌شوند. جفت داران، پستاندارانی هستند که در اثر تغییرات و اعمال متقابل سلول‌های ابتدایی جنینی با دیواره رحم به تدریج اندامی به نام جفت را به وجود می‌آورند و به کمک این عضو جنین آن‌ها قادر می‌شود کلیه‌ی اعمال فیزیولوژیکی خود را به کمک مادر انجام دهد. در این جانوران به هنگام حاملگی دو دوره‌ی مشخص وجود دارد دوره پیش حاملگی و دوره حاملگی، تمامی جفت داران دارای رحم اند و این اندام از داخل به خارج دارای سه لایه اندومتر، میومتر و پریمتر می‌باشد. در زمان جفت‌گیری در این جانوران پس از نفوذ اسپرم در حدود ۳۰ ساعت پس از تشکیل سلول تخم، اولین شکافتگی صورت می‌گیرد و مراحل بعدی رشد و نمو سلول تخم ادامه پیدا می‌کند. روز هفتم تا دهم بارداری به عنوان روز های بعد لانه‌گزینی شناخته شده

است. و مراحل اندام زایی نیز در این روزها انجام خواهد شد [۱۳]. با توجه به مطالب ارائه شده در این پژوهش اثر عصاره آبی گیاه افدرا ماژور در روزهای هفتم تا دهم بارداری مورد بررسی قرار گرفت. با مشاهده نتایج میزان مسمومیت و نواحی عملکرد در سطح سلولی، بافتی و اندامی و اثرات منفی بر رشد و نمو کمی پس از تزریق عصاره آبی افدرا در دوز کمتر از دوز کشنده دریافتیم که این گیاه دارای ماده‌ی موثره‌ی خاصی بوده که توانسته سبب اختلال و یا جلوگیری از تمایز و تقسیم صحیح سلولی شود. بر اساس نتایج بررسی‌های انجام گرفته، مقدار LD50 به میزان ۳۰۸۶ mg/kg.bw تعیین شد. عصاره آبی گیاه افدرا ماژور همان طور که ذکر شد به روش درون صفاقی به موش‌های بالغ ماده تزریق گردید زیرا که در این روش ماده به سرعت جذب صفاق احشایی و سپس وارد کبد و سیستم گردش خون می‌شود. بر اساس آزمایش‌های انجام شده در مطالعه حاضر و وجود تغییرات شاخص‌های کمی مورد نظر که در جدول-های ۱، ۲، ۳ و ۴ مشخص شده است، می‌توان به نقش عصاره آبی گیاه افدرا در مهار رشد و نمو با مصرف دوز



گیاه افدرا ماژور در روزهای مختلف بارداری موش Balb/C و رابطه‌ی کاهشی که در اندازه فرق سر- نشیمنگاهی (CR) جنین‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد می‌توان گفت که افدرین بر روی هورمون رشد و غده هیپوفیز اثر مهاری داشته است. همچنین نتایج کاهشی بدست آمده از مطالعه ما درباره وزن جنین و وزن جفت که همراه با گروه‌های تجربی و کنترل در روزهای مختلف مشخص گردیده است، نشان داده که وزن جنین و وزن جفت در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم کاهش یافته چون با تزریق عصاره و ایجاد اختلال در رشد نرمال جنین در روزهای هفتم تا دهم که روزهای بعد از لانه‌گزینی و روزهای اندام‌زایی جنین به شمار می‌آیند، این روند کاهشی به خوبی دیده شده است. می‌توان این گونه توضیح داد روزهای بعد لانه‌گزینی با این که جنین در رحم جایگزین شده اما باز هم در معرض خطر و آسیب قرار دارد و نتایج نشان داده که تزریق عصاره می‌تواند اثرات منفی بر روی جنین داشته باشد و می‌توان اظهار داشت که حتی جنین بعد از روزهای لانه‌گزینی هم می‌تواند روزهای بحرانی داشته باشد که سبب تولد جنین سالم نمی‌شود. احتمالاً رابطه به خصوص اثر منفی افدرین در این روزها بر روی جنین بیشتر است. با توجه به تحقیق حاضر و نتایجی که به دست آمده می‌توان چنین تفسیر نمود که در عصاره آبی گیاه افدرا ماژور ترکیباتی وجود دارند که دارای ساختمان استروئیدی می‌باشند که به راحتی می‌توانند از DNA غشاء عبور کرده و به گیرنده‌های خود متصل شده و به سادگی در سنتز و یا مهار سنتز یک پروتئین یا آنزیم شرکت کنند و یا سبب اختلال در عملکرد آن شوند. پس این گونه می‌توان بیان کرد که ممکن است مصرف این گیاه در دوران بارداری دلیلی برای سقط‌زایی و ایجاد ناهنجاری مشکلاتی در سلامت جنین شده و می‌تواند در جلوگیری از حاملگی-های ناخواسته با توجه به زمان و مقدار دوز مصرفی عصاره، موثر واقع شود. افدرین موجود در گیاه افدرا با ایجاد نقص در عملکرد فاکتورهای FGF10 و Wnt می-

کاهش معنی‌دار با شرط $p < 0.001$ و 300 mg/kg.bw اندازه فرق سر- نشیمنگاهی (CR) و وزن جنین و وزن جفت جنین‌های تجربی ۱۵ روزه در مقایسه با گروه‌های کنترل مربوطه از تجربیات روزهای ۷، ۸، ۹ و ۱۰ حاملگی اشاره نمود و می‌توان به نقش عصاره در جلوگیری از تقسیم و تمایز سلولی و مهار آنزیم توپوایزومراز II و تخریب DNA اشاره کرد. بر طبق بررسی‌های انجام شده Radaković و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نقش مهاری افدرین در گیاه افدرا را بر روی مهار کننده‌های همانندسازی DNA توضیح می‌دهد. مهار کننده‌های همانندسازی DNA زمانی فعال می‌شود که رونوشت نادرستی از DNA ایجاد شده باشد، این مهارکننده‌ها از ادامه روند همانند سازی ناقص جلوگیری می‌کنند. افدرین با مهار کردن، این مهارکننده‌های همانندسازی DNA، باعث همانند سازی نادرست DNA شده و می‌تواند انواعی از جهش‌های ژنتیکی و ناهنجاری‌ها و نواقصی در رشد و نمو جنین را اعمال کند [۱۴] این نتایج با یافته‌های تجربی حاصل شده از مطالعه حاضر به دلیل بروز اختلالات کمی رشد و نمو ایجاد شده در جنین‌ها شباهت دارد. میزان اثر گذاری عصاره آبی در روزهای هفتم تا دهم نشان داده که تمایز و تقسیمات سلولی دچار اختلال شده و به احتمال زیاد عصاره گیاه و مواد موثره آن به خصوص افدرین نقش بسزایی در روند تکاملی جنین داشته است. احتمالاً افدرین بیان ژن‌های Chordin و Noggin موش را تحت تاثیر قرار داده و بیان آنها را با مشکل مواجه کرده است [۷]. همچنین این ماده موثره می‌تواند با اختلال در عملکرد فاکتورهای رشد از جمله $TGF-\beta$ ، تغییر در متابولیسم بدن در جنین موش‌ها سبب بروز تغییرات نامطلوبی در رشد آن از جمله وزن جنین و وزن جفت و اندازه فرق سر- نشیمنگاهی (CR) جنین در طی دوره باروری شود. هورمون رشد (GH) توسط غده هیپوفیز ترشح و در رشد و شکل‌گیری استخوان‌ها نقش مهمی دارد، این هورمون بر رشد اندام‌ها نیز اثرگذار است [۹]. با توجه به نتایج بدست آمده از تزریق عصاره ی آبی



نتیجه‌گیری

در مجموع باتوجه به مطالعات و آزمایشات انجام شده و مشاهدات حاصل از آن می‌توان به این نتیجه رسید که عصاره آبی گیاه افدرا مازور می‌تواند اثرات بیولوژیکی منفی بر رشد و نمو کمی جنین داشته باشد و در این پژوهش به وضوح اثرات ناباروری افدرین بر روی دوره بارداری و جنین نشان داده است، اما با این حال برای بررسی‌های بیشتر و دقیق‌تر و نیز تحقیقات گسترده‌تر، به خصوص در زمینه ژنتیکی و بیان اختلالات ژنی ایجاد شده در اثر عصاره آبی گیاه افدرا مازور و افدرین مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

از کلیه عوامل و همکاران محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج که در اجرای این پروژه تحقیقاتی ما را یاری نموده‌اند کمال تشکر را داریم.

منابع

1. Al-Qarawi A.A., Abd Allah E.F., Hashem A. (2012), Effect of Ephedra Alata on nucleic acids and nitrogen metabolism of seed borne *Aspergillus flavus*. *Botany*, 44(1): 425-428.
2. Amakura Y., Yoshimura M., Yamakami S., Yoshida T., Wakana D., Hyuga M., and et all. (2013), Characterization of phenolic constituents from Ephedra herb extract. *Molecules*, 18(5): 5326-5334.
3. Backer R., Tautman D., Lowry S., Harvey C.M., Poklis A. (1997), Fatal ephedrine intoxication. *Forensic Sciences*, 42(1): 157-159.
4. Boozer C.N., Daly P.A., Homel P., Solomon J.L., Blanchard D., Nasser J.A., and et all. (2002), Herbal ephedra/caffeine for weight loss: a 6-month randomized safety and efficacy trial. *Obesity*, 26: 593-604.
5. Drew C.D., Knight G.T., Hughes D.T., Bush M. (1978), Comparison of the effects of D-(-)-ephedrine and L-(+)-pseudoephedrine on the cardiovascular and respiratory systems in man. *Clinical Pharmacology*, 6: 221-225.

تواند روند تمایز را دچار اختلال کند و مستقیماً بر مرحله اندام‌زایی جنین موش اثرگذار باشد [۹].

مطالعه Poorsughra و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان داد که مصرف عصاره‌های آبی برخی از گیاهان در دوران بارداری می‌تواند مانع از تولد جنین سالم شود، این پژوهش ضمن تفاوت در نوع عصاره مصرفی، از نظر روش انجام آزمایش و جامعه نمونه با تحقیق حاضر شباهت داشته است [۱۵]. در تحقیقات Boozer و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام گرفته اثر افدرین را بر روی کاهش وزن موثر دانسته، این ماده امروزه برای تهیه بسیاری از داروهای موثر در کاهش وزن مورد استفاده قرار می‌گیرد، این اظهارات با نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر به دلیل تاثیر بر کاهش وزن مطابقت دارد [۴].

در مطالعه‌ی دیگر که توسط Greenway و همکارانش در سال ۲۰۰۴ بر روی اثرات مکمل غذایی افدرا همراه با کافئین بر روی موش نژاد Rate بررسی شد، مشخص شد که این ترکیبات اثر قابل توجهی بر بالا بردن متابولیسم بدن و کاهش وزن داشتند، این نتایج نیز با مشاهدات ما در این پژوهش به دلیل اثرات عصاره آبی افدرا بر روی کاهش وزن جنین موش مشابه است [۸]. البته وجود جنین‌های با اختلالات زیاد در روند تکاملی که همراه با کاهش وزن جنین و جفت و کاهش شدید در اندازه فرق سری- نشیمنگاهی (CR) بوده و احتمالاً بعد تولد قادر به زنده ماندن نباشند، نشان می‌دهد که ماده موثره گیاه افدرا توانسته اختلالاتی در روند سلامت جنین‌ها ایجاد کند که با اظهارات Backer و همکارانش در سال ۱۹۹۷، که اعلام مسمومیت کشنده افدرا در انسان را داشته‌اند، همخوانی داشته است و تاییدی دیگر برای صحت نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می‌باشد، البته شایان ذکر است که نوع نمونه مورد سنجش این دو مطالعه متفاوت است [۳]. یکی از امتیازات قابل به ذکر این پروژه پژوهشی این است که تا آن جایی که بررسی نموده‌ایم، تاکنون تحقیقاتی در رابطه با اثرات این عصاره بر روند تکاملی جنین صورت نگرفته است.



15. Radakovic M., Djelic N., Stanimirovic Z., Plecas-Solarovic B., Spremo-Potparevic B., Zivkovic L., Bajic V. (2011), Evaluation Of The Effects Of Ephedrine On Human Lymphocytes In The Comet Assay. *Acta Veterinaria*, 61(4): 363-371.
16. Rustaiyan A.H., Javidnia K., Farjam A.H., Aboee-Mehrizi F., Ezzatzadeh E. (2011), Antimicrobial and antioxidant activity of the Ephedra sarcocarpa growing in Iran. *Medicinal Plants Research*, 5(17): 4251-4255.
17. Song M., JANG H., Lee B. (2012), Beneficial effect of dietary Ephedra sinica on obesity and glucose intolerance in high-fat diet-fed mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3: 707-712.
18. Torabzadeh P., Panahi P., Sabokbar A., Mokhtari A. (2009), Antibacterial activity evaluation of Ephedra Major Host acetonc, aqueous and alcoholic extracts against standard strains of E. coli, P. aeruginosa, S. aureus and S. pyogenes. *Comparative Pathobiology*, 6(4):91-98.
19. White LM., Gardner S.F., Gurley B.J., Marx M.A., Wang P.L., Estes M. (1997), Pharmacokinetics and cardiovascular effects of ma-huang (Ephedra sinica) in normotensive adults. *Clinical Pharmacology*, 37(2):116-22.
20. Williams A.D., Cribb P.J., Cooke M.B., Hayes A. (2008), The Effect of Ephedra and Caffeine on Maximal Strength and Power in Resistance-Trained Athletes. *Strength and Conditioning Research*, 22(2): 464-470.
21. Ying-Mei L., Shuenn-Jyi S.H. (1992), Determination of ephedrine alkaloids by capillary electrophoresis. *Chromatography*, 600(2): 370-372.
22. Zargari A. (1994), Medicinal Plants. Tehran University Publications, 6th edition, 680 pp.
6. Feresin G.E., Tapia A., López S.N., Zacchino S.A. (2001), Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentine. *Ethnopharmacology*, 78(1): 103-107.
7. Gratsch T.E., O'Shea K.S. (2002), Noggin and Chordin Have Distinct Activities in Promoting Lineage Commitment of Mouse Embryonic Stem (ES) Cells. *Developmental Biology*, 245(1): 83-94.
8. Greenway F.L., Jonge L., Blanchard D., Frisard M., Smith S.R. (2004), Effect of a Dietary Herbal Supplement Containing Caffeine and Ephedra on Weight, Metabolic Rate, and Body Composition. *Obesity Research*, 12(7): 1152-1157.
9. Gilbert S.F. (2011), Developmental biology, Baharvand H., Eighth Edition, Sunderland, Massachusetts, 2: 370-390.
10. Ibragic S., Sofic E. (2015), Chemical composition of various Ephedra species. Bosnian. *Basic Medical Sciences*, 15(3): 21-27.
11. Lee M.R. (2011), The history of Ephedra. *Royal College of Physicians of Edinburgh*, 41(1): 78-84.
12. Mousavi A. (2004), Medicinal plants of Zanjan Province. *Medicinal and Aromatic Plants*, 20(3): 345-368.
13. Parivar K., Mohseni S. (1994), Air, Atlas of Embryology and Experimental Embryology. University Jihad Teacher Training University, 1: 49.
14. Poorsughra B., Javidnia K. (2003), The effect of aqueous extract of safflower on the incidence of eyes abnormalities in mouse embryo. *Journal of Zanjan University of Medical Sciences*, 11(45): 27-31.