

تاخیر تکامل عدسی چشم ناشی از عصاره آبی میوه سنجد (*Elaeagnus angustifolia L.*) در جنین موش نژاد

Balb/C

جمشید آروم M.Sc.^۱، مهناز آذرنیا Ph.D.^۱، غلامرضا کاکا Ph.D.^۲، سید همایون صدرایی Ph.D.^۳، محمد کمالی نژاد M.Sc.^۴

- ۱- دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری، تهران، ایران
- ۲- دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری، تهران، ایران
- ۳- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، تهران، ایران
- ۴- دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، گروه آناتومی تهران، ایران
- ۵- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده فارماکولوژی، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: gh_kaka@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۲۴

چکیده

هدف: سنجد *Elaeagnus Angustifolia L.* گیاهی با اثرات درمانی متفاوت است. در این تحقیق اثر عصاره آبی میوه سنجد بر تکامل عدسی چشم جنین موش نژاد Balb/C مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰ سر موش ماده باردار به‌طور تصادفی به ۲ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه کنترل آب آشامیدنی روزانه دریافت کرده و گروه تجربی عصاره آبی میوه سنجد را با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت ۱۸ روز از روز صفر بارداری تا روز ۱۸ بارداری به‌صورت خوراکی دریافت نمودند. پس از کشتن همه موش‌ها در هیجدهمین روز بارداری، سر جنین‌های آنها جدا، تثبیت و برای انجام روش‌های بافت‌شناسی آماده شدند. از جنین‌ها مقاطع سائیتال با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و سپس به روش هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) و اسید فوشین-لایت گرین رنگ آمیزی انجام شدند. سپس برش‌ها به‌وسیله میکروسکوپ نوری و نرم افزار موتیک آن‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان داد که میانگین‌های وزن و طول سری-دمی جنین‌ها در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. میانگین تعداد جنین‌ها در گروه آزمایش نسبت به گروه تجربی کاهش غیر معنی‌دار داشت. میانگین قطر و وزن جفت در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. همچنین قطرهای قدامی-خلفی و بالایی-پایینی عدسی و همچنین مساحت سطح عدسی در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهد مصرف عصاره آبی میوه سنجد با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در زمان بارداری سبب تاخیر رشد در عدسی چشم جنین موش می‌شود.

واژگان کلیدی: عصاره سنجد، جنین، عدسی، موش

مقدمه

از آنجایی که احتمال دارد بعضی از مادران باردار به دلیل داشتن دردهای مفاصل و عضلات به توصیه پزشکان متخصص و یا به صورت خود درمانی سنجد مصرف کنند ممکن است اثرات نامناسبی بر روی تکامل جنین داشته باشد. با توجه به اینکه چشم یکی از مهم‌ترین اعضا موجود زنده می‌باشد این تحقیق تاثیر سنجد را بر عدسی جنین موش سوری در روز هجدهم بارداری بررسی می‌نماید.

مواد و روش‌ها

موش کوچک آزمایشگاهی ماده بالغ نژاد Balb/C به تعداد ۳۰ عدد با محدوده وزنی 33 ± 7 گرم از بخش حیوانات دانشگاه بقیه الله تهیه شد. موش‌ها در یک محیط کنترل شده، در دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 ± 5 درصد و ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. تمام موش‌های نر و ماده به مدت یک هفته برای سازش با محیط به صورت جداگانه در حیوان خانه دانشگاه بقیه الله نگهداری و با غذای استاندارد تغذیه شدند. پس از ۲۴ ساعت جفت شدن حیوانات با موش‌های نر و حصول اطمینان از بارداری (مشاهده اسپرم در گسترش واژنی) موش‌های نر جدا و روز صفر بارداری تعیین شد. سپس موش‌های باردار به طور تصادفی به دو گروه شاهد و آزمایش تقسیم شدند. گروه شاهد (C) که هیچ‌گونه ماده‌ای دریافت نکردند و گروه تجربی که عصاره آبی سنجد با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت محلول در آب خوراکی از روز صفر بارداری تا روز هجدهم بارداری دریافت کردند.

موش‌های باردار در پایان روز ۱۸ بارداری به وسیله استنشاق کلروفورم با دوز بالا کشته شدند. جنین‌ها را با دقت و به صورتی که جفت و جنین آسیب نبینند از داخل شاخ‌های رحمی و کیسه آمنیون جدا کرده، سپس به وسیله ترازوی دیجیتال وزن جنین‌ها و جفت‌ها و به کمک کولیس اندازه طول سری-دمی جنین‌ها، اندازه قطر بزرگ و قطر کوچک جفت‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس جنین‌ها و جفت‌ها از نظر ناهنجاری‌های مورفولوژی به وسیله‌ی لوپ مورد بررسی قرار گرفتند. در انتها جنین‌ها به منظور فیکس نمودن در داخل ظرف محتوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. تعداد ۵ جنین از میان جنین‌های هر موش باردار به صورت تصادفی انتخاب شده، پس از گذراندن مرحله پردازش بافتی و تهیه برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون به

استفاده از داروهای گیاهی بر علیه بیماری‌های مختلف از زمان بسیار قدیم مرسوم بوده است. انسان اولیه از گیاهان به عنوان عوامل درمانی استفاده می‌کرد. طبیعت گیاهان فراوانی را که دارای ارزش‌های دارویی هستند فراهم می‌کند. خواص دارویی بعضی از گیاهان مشخص شده اما خواص تعداد زیادی از گیاهان باقی مانده و هنوز ناشناخته است. بنابراین انجام مطالعات و شناسایی خواص درمانی آن‌ها ضروری می‌باشد (۱ و ۲).

گیاه سنجد با نام علمی *Elaeagnus angustifolia* در طب سنتی ایران به عنوان ضد درد و ضد التهاب معرفی شده است. جوشانده و عصاره میوه سنجد به عنوان درمان تب، زردی، آسم، کزاز و آرتریت روماتوئید استفاده می‌شود (۳ و ۴). از آنجایی که در این مطالعه اثرات گیاه سنجد مد نظر بوده است لذا ترکیبات و کاربرد دارویی گیاه سنجد به این صورت شرح داده می‌شود که میوه و برگ‌های آن دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فلاونوئیدی (Flavonoids)، ترپنویدها (Terpenoids)، سیتواسترول (Sitosterol)، آلکالوئیدها (Alkaloids) و کارواکرول (Carvacrol) می‌باشد (۵). سنجد حاوی پتاسیم، منیزیم، سدیم، آهن، کلسیم، روی و مس می‌باشد. میوه آن حاوی ویتامین‌های مختلف از جمله A، B و K است و هسته آن دارای اسید چرب لینولئیک، فسفولیپید، گلیکولیپید و بتا سیتوسترول می‌باشد (۶). عصاره بعضی از گیاهان می‌توانند اثر خود را طی دوران بارداری و یا حین زایمان نشان دهند که این موضوع بیانگر اهمیت رژیم غذایی مادران در دوران بارداری است (۷).

تحقیقات نشان داده است که ترکیبات میوه سنجد به راحتی از سد جفتی عبور کرده و به جنین می‌رسند (۸). فلاونوئیدها که مهم‌ترین ماده موجود در عصاره گیاه می‌باشند (۹) از طریق افزایش جذب ترکیبات کلسیمی در بافت دیافیز استخوان باعث افزایش طول سری-دمی می‌شوند. همچنین کارواکرول از اجزای ضد میکروبی بسیار موثر در اسانس‌هاست (۱۰) که اثر ضد میکروبی آن به دلیل نفوذپذیر نمودن غشای سلول می‌باشد که می‌تواند با کاتیون‌های سطح غشا کلاته شده و فعالیت‌های حیاتی را مختل کند (۱۱) و تغییراتی را در جفت‌ها ایجاد نماید. از طرف دیگر به علت وجود ویتامین‌های مختلف در عصاره میوه سنجد ازدیاد این ویتامین‌ها نیز باعث اثرات تراژوژنیک در تکامل اندام‌های جنین به ویژه سیستم عصبی مرکزی می‌شوند.

نتایج

در این تحقیق طول سری-دمی، وزن و تعداد جنین‌ها، طول، قطر و وزن جفت‌ها و همچنین قطرهای قدامی-خلفی و بالایی-پایینی عدسی و مساحت عدسی توسط آزمون T-test مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت که نتایج این مطالعات به شرح زیر می‌باشد:

میانگین وزن و طول سری-دمی جنین‌ها در گروه تجربی که دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره سنجد دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد افزایش داشت که این افزایش وزن در گروه تجربی معنی‌دار بود (نمودار ۱ و ۲). همچنین میانگین تعداد جنین‌ها در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد کاهش داشت که این کاهش در تعداد جنین در گروه تجربی از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۳). اما میانگین وزن، قطر و ضخامت جفت بر حسب گرم در گروه تجربی که عصاره سنجد دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد کاهش داشت که این کاهش در وزن، قطر و ضخامت جفت در گروه تجربی معنی‌دار بود (نمودار ۴، ۵ و ۶).

همچنین بررسی‌های هیستومورفومتریک نشان داد که میانگین قطرهای عدسی (قطر قدامی-خلفی و بالایی-پایینی عدسی) و همچنین میانگین مساحت عدسی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را داشت (شکل ۱).

روش‌های هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) و اسید فوشین-لایت‌گرین رنگ‌آمیزی شدند. سپس نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری متصل به رایانه و نرم افزار موتیک مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های به‌دست آمده با میکروسکوپ نوری با روش آزمون T-test در نرم افزار Spss مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین (Mean \pm SEM) ارائه شد و تفاوت میانگین‌ها در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

محاسبه میزان دوز محلول سنجد: دوز انتخاب شده در این تحقیق ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای گروه تجربی به‌صورت خوراکی می‌باشد و گروه کنترل دست نخورده باقی می‌مانند. ابتدا میزان آب مصرفی حیوان در ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد. به‌صورت میانگین میزان آب مصرفی هر حیوان با وزن ۴۰ گرم، ۶ میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت بود.

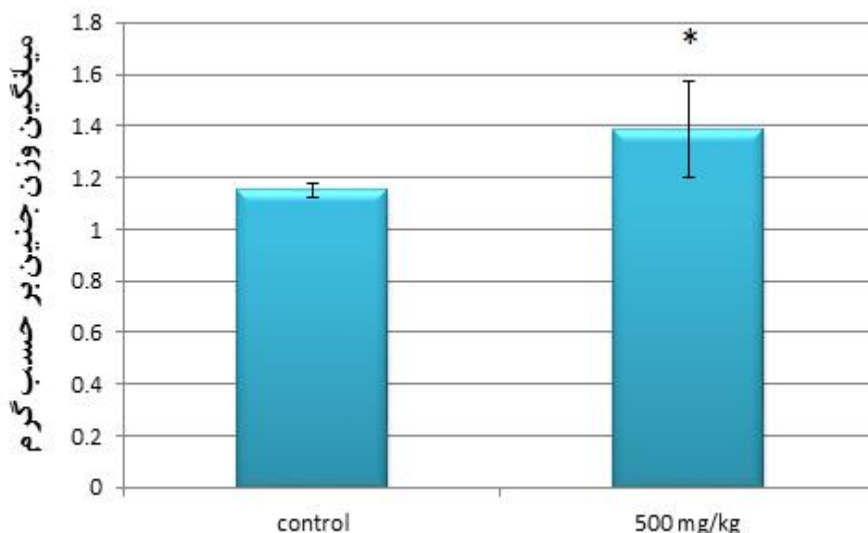
$$500 \text{ mg} \quad 1000 \text{ g}$$

$$X \quad 40 \text{ g} \rightarrow X = 20000/1000 = 20 \text{ mg}$$

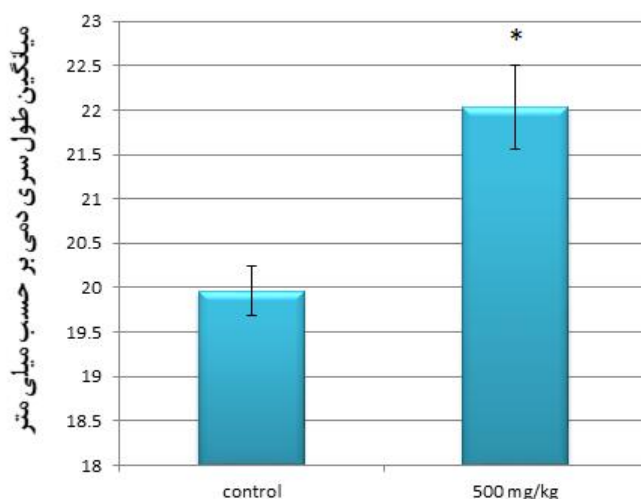
در نتیجه به‌ازای یک حیوان ۴۰ گرمی روزانه باید ۲۰ میلی‌گرم عصاره مصرف شود.

$$20 \text{ mg} \quad 6 \text{ ml}$$

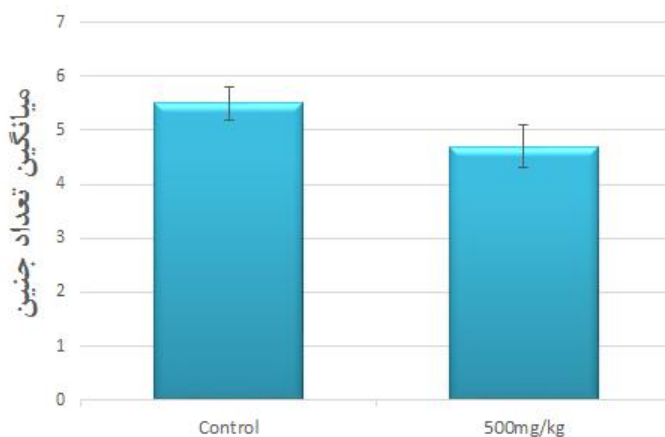
$$X \quad 600 \text{ ml} \rightarrow X = 2000 \text{ mg} = 2 \text{ g}$$



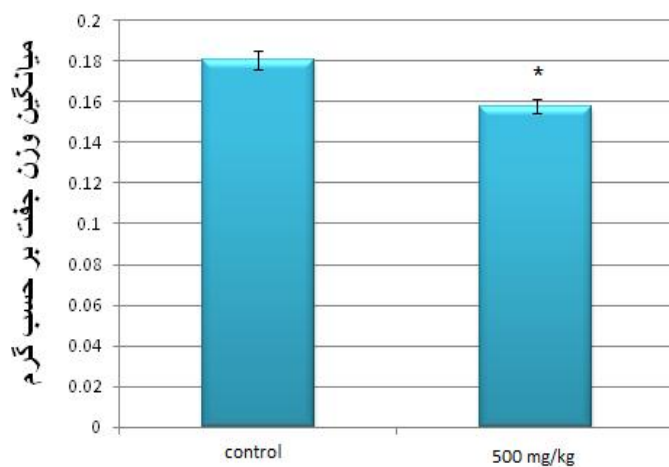
نمودار ۱: میانگین وزن جنین‌های ۱۸ روزه را بر حسب گرم در گروه‌های شاهد و تجربی نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار مشخص است بین وزن جنین‌ها در گروه تجربی و گروه شاهد افزایش معنی‌داری دیده می‌شود ($p < 0.05$).



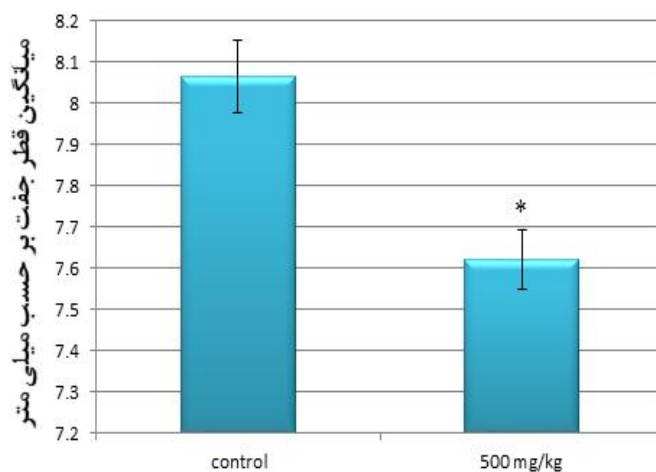
نمودار ۲: میانگین طول سری-دمی جنین‌های ۱۸ روزه را بر حسب میلی‌متر در گروه‌های شاهد و تجربی نشان می‌دهد. علامت * نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین گروه تجربی با گروه شاهد می‌باشد.



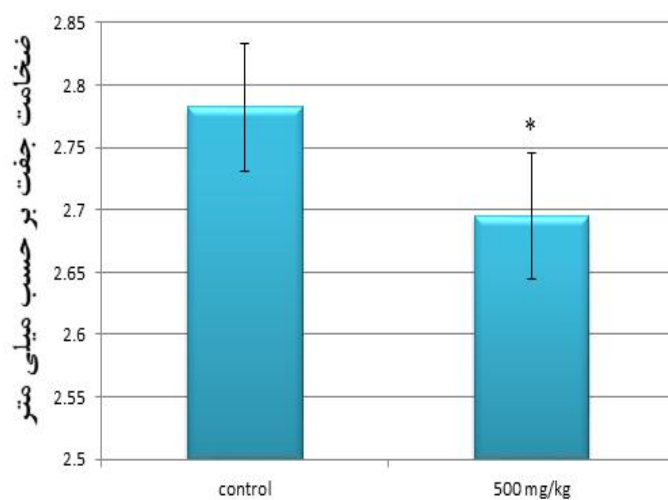
نمودار ۳: میانگین تعداد جنین‌های ۱۸ روزه را در گروه‌های شاهد و تجربی نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار مشخص است بین وزن جنین‌ها در گروه تجربی و گروه شاهد تغییر معنی‌داری دیده نمی‌شود.



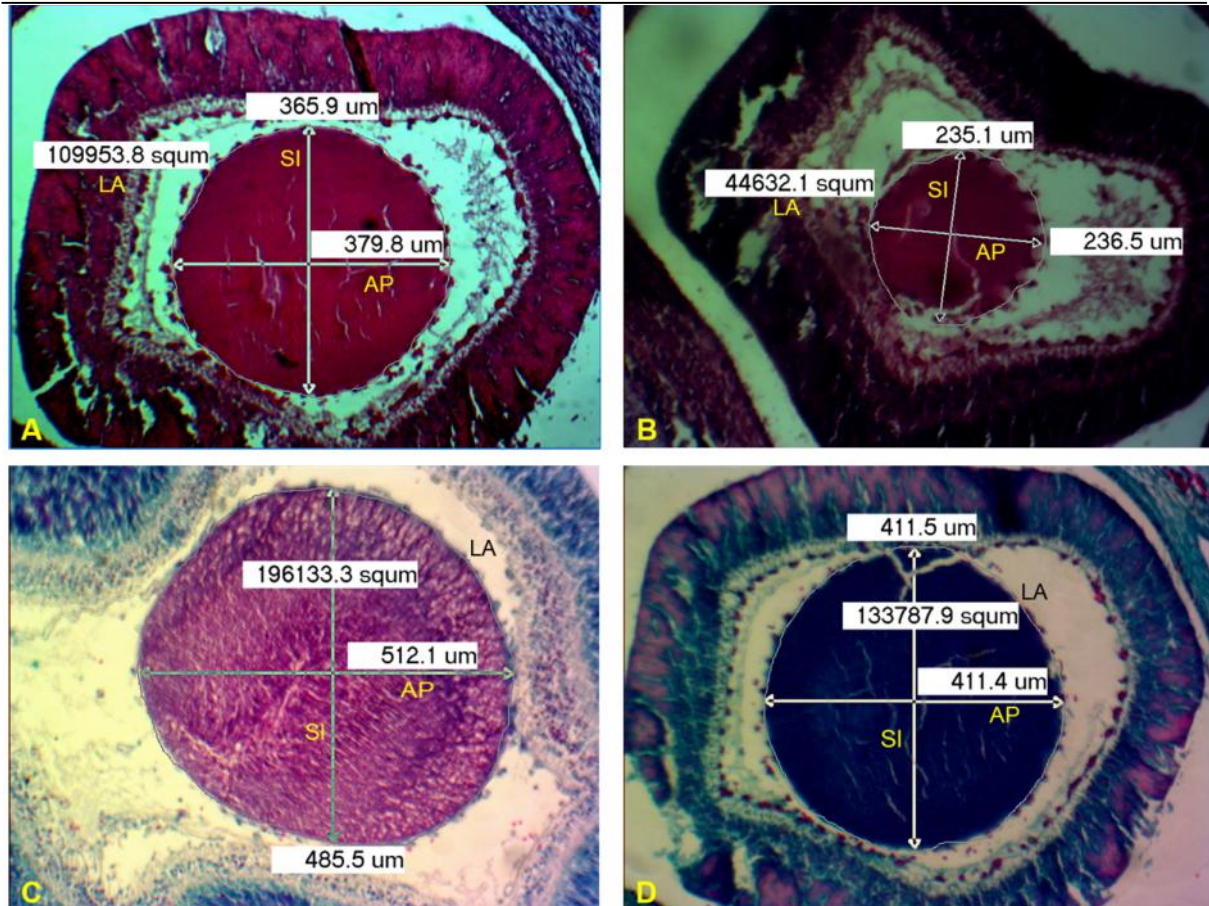
نمودار ۴: میانگین وزن جفت جنین‌های ۱۸ روزه را بر حسب گرم در گروه شاهد و گروه تجربی نشان می‌دهد. علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین گروه تجربی و گروه شاهد می‌باشد.



نمودار ۵: میانگین قطر جفت جنین‌های ۱۸ روزه را بر حسب میلی‌متر در گروه شاهد و گروه تجربی نشان می‌دهد. علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین گروه تجربی با گروه شاهد می‌باشد.



نمودار ۶: میانگین ضخامت جفت جنین‌های ۱۸ روزه را بر حسب میلی‌متر در گروه شاهد و گروه تجربی نشان می‌دهد. علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بین گروه تجربی با گروه شاهد می‌باشد.



شکل ۱: عدسی چشم جنین ۱۸ روزه با بزرگنمایی $\times 10$. A: گروه شاهد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین)، B: گروه تجربی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین)، C: گروه شاهد (رنگ آمیزی اسید فوشین - لایت گرین)، D: گروه تجربی (رنگ آمیزی اسید فوشین - لایت گرین). AP: قطر قدامی - خلفی عدسی SI: قطر بالایی - پایینی عدسی LA: مساحت عدسی

در پستانداران فلاونوئید موجود در رژیم غذایی مادر در مایع آمنیوتیک مشاهده گردید (۱۳ و ۱۴) که ثابت کننده عبور جفتی این ماده و اثرات آنابولیک آن بر روی جنین می‌باشد (۱۵) که باعث افزایش تراکم استخوان در موش‌های صحرایی فاقد تخمدان گردید (۱۶). فلاونوئیدها همچنین باعث افزایش ترکیبات کلسیمی در بافت دیافیز استخوان در سیستم کشت ران موش صحرایی می‌شوند (۱۷). در نتیجه با توجه به اینکه سنجد حاوی فلاونوئید است به نظر می‌رسد که افزایش طول سری-دمی به دنبال افزایش ترکیبات کلسیمی که با حضور فلاونوئید جذب بالاتری در بدن خواهند داشت می‌باشد.

یافته دیگر این مطالعه کاهش معنی‌دار وزن، قطر و ضخامت جفت در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد بود. هم‌سو با تحقیق ما بررسی‌های انجام شده توسط مرتضی انوری و همکارانش (۱۸) بر روی اثر دم کرده گیاه آویشن شیرازی

بحث

عصاره میوه سنجد دارای خواص متفاوتی مانند اثرات ضد التهابی، ضد دردی، ضد باکتری و آنتی‌اکسیدانته شناخته شده‌ای است که در این زمینه تحقیقات زیادی صورت گرفته ولی در رابطه با تاثیر ناهنجاری زایی این گیاه دارویی به هنگام مصرف در دوران بارداری مطالعات اندکی صورت گرفته است.

نتایج این مطالعه نشان داد که وزن جنین‌ها و طول سری-دمی جنین‌ها در گروه تجربی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت که یافته‌های طولانی‌خو زانی مبنی بر تاثیر عصاره سنجد بر استخوان‌سازی و غضروف‌سازی در جوانه‌ی اندام حرکتی موش را تایید می‌کند (۱۲). تاثیر عصاره میوه سنجد در افزایش طول سری-دمی جنین احتمالاً به علت وجود فلاونوئید به‌عنوان یکی از ترکیبات مهم این عصاره باشد.

بینایی جزئی از سیستم عصبی مرکزی محسوب می‌شود. اولین مرحله در تشکیل عدسی ضخیم شدن اکتودرم سطحی است که توسط حباب بینایی القا می‌شود. در مرحله بعدی سلول‌های عدسی تمایز پیدا کرده، پروتئینی به نام کریستالین را ترشح می‌کنند که باعث بیرون راندن هسته و شفاف شدن آن می‌شود. این تمایز در تکامل صحیح عدسی اهمیت زیادی دارد و ایجاد هر گونه اختلال در انجام این مراحل باعث ایجاد اختلال در عملکرد و تکامل صحیح سیستم بینایی می‌شود (۲۲). بنابراین به نظر می‌رسد که کاهش میانگین قطرهای عدسی و همچنین کاهش میانگین مساحت عدسی ناشی از ازدیاد ویتامین‌های مذکور باشد اما برای اثبات این ادعا انجام تحقیقات بیشتری نیاز است.

نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد مصرف عصاره آبی میوه سنجد در زمان بارداری سبب ایجاد تغییراتی در رشد و نمو جنین و همچنین باعث تاخیر رشد در عدسی چشم جنین موش می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل انجام پژوهش و تحقیق در مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) و آزمایشگاه تحقیقاتی بافت‌شناسی دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی تهران بوده است که بدین وسیله از این مراکز کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Neef H, Declercq P, Laekeman G. Hypoglycaemic activity of selected European plants. *Phytother Res*. 1995; 9(1): 45-8.
2. Noel PH, Pugh JA, Larne AC, Marsh G. The use of traditional plant medicines for non-insulin dependent diabetes mellitus in South Texas. *Phytother Res*. 1997; 11(7): 512-7.
3. Clawson ML, Caru M, Benson DR. Diversity of frankia strains in root nodules of plants from the families elaeagnaceae and rhamnaceae. *Appl Environ Microbiol*. 1998 Sep; 64(9): 3539-43.
4. Jiang F, Xie J, Dan J, Liu J, et al. Selection of optimal ultrasonic extraction process of *Elaeagnus angustifolia* L. by uniform design. *Zhong Yao Cai*. 2001 Dec; 24(12): 891-2.

کارواکرول یکی از ترکیبات مشترک موجود در سنجد و گیاه آویشن) بر وضعیت جفت و جنین‌های موش سفید بزرگ آزمایشگاهی بوده است که ایشان نیز نشان دادند که مصرف آویشن شیرازی در هفته‌ی دوم دوره بارداری منجر به بروز تغییرات جزئی نظیر اندازه دم جنین و قطر جفت شده است و میانگین قطر جفت در گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. مهم‌ترین مواد موثره موجود در آویشن شیرازی تیمول و کارواکرول هستند که اثر آنتی اکسیدانت، ضد میکروبی و ضد قارچی دارند (۱۸) و اثر ضد میکروبی آن‌ها به دلیل نفوذپذیر نمودن غشای سلول توسط آن‌هاست که می‌توانند با کاتیون‌های سطح غشا کلاته شده و فعالیت‌های حیاتی را مختل کنند (۱۱). به نظر می‌رسد کارواکرول که یکی از ترکیبات مشترک موجود در سنجد و گیاه آویشن است از عوامل ایجاد کننده تغییرات جفت‌ها در گروه تجربی باشد.

همچنین کاهش قطر جفت می‌تواند به دلیل اثر ترکیبات عصاره آبی میوه سنجد روی رشته‌های دوک تقسیم و کاهش در تقسیم سلولی جفت باشد که احتمال می‌رود این اثر ناشی از وجود آلکالوئیدها باشد (۱۹).

از دیگر یافته‌های این پژوهش کاهش میانگین قطرهای عدسی (قطر قدیمی-خلفی و بالایی-پایینی عدسی) و همچنین کاهش میانگین مساحت عدسی در گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد بود. شاید این امر ناشی از وجود فلزات مختلف مانند مس در عصاره میوه سنجد باشد. بر طبق مطالعات پروری و همکاران (۲۰) مس اثری سمی بر روی دستگاه عصبی مرکزی دارد، این پژوهش نشان داد که مس می‌تواند در سراسر سیستم عصبی جنین تغییرات سلولی ایجاد کند که این تغییرات به صورت بی‌نظمی در جهت قرارگیری سلول‌ها و هسته‌ها، افزایش فضای بین سلولی، ادم سلول‌ها و در نهایت دژنراسیون سلول‌های عصبی قابل ملاحظه می‌باشد.

همچنین به علت وجود ویتامین‌های مختلف مانند K, E, C, A در عصاره میوه سنجد ازدیاد این ویتامین‌ها نیز باعث اثرات تراتوژنیک در تکامل اندام‌ها می‌شوند. به عنوان مثال بر طبق یافته‌های نورالله رضایی و همکارانش (۲۱) ازدیاد ویتامین A یک تراتوژن قوی است که سبب ایجاد ناهنجاری‌هایی در تکامل اندام‌ها به ویژه سیستم عصبی مرکزی می‌شود. سیستم بینایی از ناحیه دیانسفال مغز پیشین منشا می‌گیرد (در نتیجه سیستم

5. Gupta MB, Nath R, Srivastava N, et al. Anti-inflammatory and anti-pyretic effect of sitosterol. *planta Med.* 1979; 3: 157-63.
6. Kousova RD, Kazakov A. Phenolic compounds in fruit of *Elaeagnus angustifolia*. *Khim.Prir.soedin.* 1998; 8: 455-6.
7. Koren G, Dugoua JJ, Magee L, Vohra S, et al. MotherNature: establishing a Canadian research network for natural health products (NHPs) during pregnancy and lactation. *J Altern Complement Med.* 2008 May; 14(4): 369-72.
8. Dembi ska-Migas W, Gill S. Flavonoids in leaves of *Elaeagnus angustifolia* L. *Pol J Pharmacol Pharm.* 1973 Nov-Dec; 25(6): 599-606.
9. Martínez-Vázquez M, Ramirez Apan TO, Aguilar H, Bye R. Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract and of the flavone learn of *Buddleia cordata*. *Planta Med.* 1996; 62(2): 137-40.
10. Buchanan RL, Shepherd AJ. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thymol. *J Food Sci.* 1981; 46(3): 976.
11. Ultee A, Kets EP, Smid EJ. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 1999 Oct; 65(10): 4606-10.
12. Talaei-Khozani T, Vojdani Z, Dehghani F, Heidari E, et al. Toxic effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract on chondrogenesis and osteogenesis in mouse limb buds. *Tokai J Exp Clin Med.* 2011; 36(3): 63-70.
13. Engel SM, Levy B, Liu Z, Kaplan D, et al. Xenobiotic phenols in early pregnancy amniotic fluid. *Reprod Toxicol.* 2006 Jan; 21(1): 110-2. Epub 2005 Aug 19. Foster WG, Chan S, Platt L, Hughes CL Jr. Detection of phytoestrogens in samples of second trimester human amniotic fluid. *Toxicol Lett.* 2002 Mar 28; 129(3): 199-205.
14. Yamaguchi M, Hamamoto R, Uchiyama S, Ishiyama K. Effects of flavonoid on calcium content in femoral tissue culture and parathyroid hormone-stimulated osteoclastogenesis in bone marrow culture in vitro. *Mol Cell Biochem.* 2007 Sep; 303(1-2): 83-8. Epub 2007 Jun 1.
15. Degen GH, Janning P, Diel P, Michna H, et al. Transplacental transfer of the phytoestrogen daidzein in DA/Han rats. *Arch Toxicol.* 2002; 76(1): 23-9.
16. Horcajada-Molteni MN, Crespy V, Coxam V, Davicco MJ, et al. Rutin inhibits ovariectomy-induced osteopenia in rats. *J Bone Miner Res.* 2000; 15(11): 2251-8.
17. Saleem M, Nazli R, Afza N, Sami A, et al. Biological significance of essential oil of *Zataria multiflora* boiss. *Nat Prod Res.* 2004; 18(6): 493-7.
18. Dashti Mh, Anvari M, Zeinali F, Hosseini-Bioki SM, et al. The Effect of Thyme (*Zataria multiflora* Boiss.) Decoction on Pregnancy in Rats. *Journal of Medicinal Plants.* 2011; 10(2):19-25
19. Shariatzadeh MS, Azarnia M, Kaka Gh, Shogh N, et al. Study of Teratogenic Effects of Extract of *Berberis Integerrima* on Liver Tissue in Mouse Embryo. *JCT.* 2013; 4(1): 63-70.
20. Parvari S, Mehdizadeh M, Parivar K, Nobakht M. Teratogenic Effect of CuCl₂ on the development of neural tube in Balb/C mouse embryo with emphasis on cervical spine. *J Iran Univ Med Sci* 2003; 4: 105-112.
21. Rezaee N, Hashemi MB, Khalilian AR, Moghaddam A. Teratogenic Effect of Excess Vitamin A on the limb development in mouse embryo. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2001; 11(31): 16-25.
22. Gilbert Scott S. The central nervous system and cell-cell communication in development. in: Gilbert SS, Editor. *Developmental biology.* Massachusetts: Sinauer Associates Inc. 2000; 143-148.

Delayed lens development induced in *Balb/C* mouse embryo by *Elaeagnus angustifolia* aqueous extract

Arum J, M.Sc.¹, Azarnia M, Ph.D², Kaka Gh, Ph.D³, Sadraie H, Ph.D^{3,4}, kamalinejad M, M.Sc.⁵

1. Department of Animal biology, Faculty of biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2. Department of Animal biology, Faculty of biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

3. Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Anatomy, School of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5. Faculty of Pharmacology, Shahid Beheshti University of medical Science, Tehran, Iran

* Email corresponding author: gh_kaka@yahoo.com

Received: 15 Jul. 2014

Accepted: 30 Sep. 2014

Abstract

Aim: *Elaeagnus angustifolia* L. is a plant with many therapeutic effects. In this study the effect of aqueous extract of *E. angustifolia* fruit on *Balb/C* mouse embryo lens development was investigated.

Material and Methods: Thirty pregnant mice were randomly divided into two equal groups. Control group received drinking water daily and the experimental group received *E. angustifolia* fruit aqueous extract orally at a dose of 500 mg/kg from zero days to 18th day of pregnancy. After killing all of mice at 18th day gestation, their fetal heads were removed, fixed and processed for histological procedures. Fetal heads were sagittally sectioned at 5 μ thickness and then were stained with hematoxylin-eosin (H&E) and acid fuchsin-light green techniques. Then sections were examined using a light microscope and Motic software.

Results: Results showed that weight and Crown-Rump length mean of fetuses significantly increased in experimental group compared to control. Mean number of fetuses in experimental group was no significant decreased in comparison with control. Means placenta weight and diameter significantly decreased in experimental group compared to control. Also antero-posterior and superior-inferior diameters of lens and lens surface area significantly decreased in experimental group in comparison with control.

Conclusion: These results indicate that using *E. angustifolia* fruit aqueous extract at 500 mg/kg dose in pregnancy during is caused delaying in mouse embryo lens development.

Keywords: *Elaeagnus angustifolia* extract, Fetus, Lens, Mouse