

## اثرات عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) بر تولید مثل و جنین در موش صحرایی نژاد ویستار

مهناز نسیمی<sup>۱\*</sup>، میترا حیدری نصرآبادی<sup>۲</sup>، عبدالحسین شیروی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشکده علوم تجربی، گروه علوم جانوری

<sup>۲</sup> تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم پایه

تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۱۸

تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۲

### چکیده

امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات در جوامع افزایش رشد جمعیت است. به همین منظور بررسی روی اثرات گیاهان دارویی ضروری می‌باشد زیرا بعضی از گیاهان دارویی نقش مهمی بر روی کاهش تولیدمثل ایفاء می‌کنند. در این پژوهش اثر عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده بر جنینهای موش صحرایی و تعیین میزان اثر عصاره بر تولیدمثل در روز ۱۵ بارداری مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور تحقیق روی ۲۰ سر موش ماده رت که به طور تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شدند انجام گرفت. گروه کنترل و گروههای تجربی ۳ و ۲، ۱ که به ترتیب دوزهای ۸ g/kg، ۱۰ g/kg و ۱۲ g/kg از عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده را در روز ۶ بارداری دریافت کردند. ۲۱۷ جنین در روز ۱۵ بارداری از رحم خارج و از نظر ریخت‌شناختی و بافت‌شناختی بررسی شدند. تجزیه و تحلیل به دست آمده نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده در روز ۶ بارداری به موش باردار باعث کاهش معنی‌دار وزن جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲، ۱ و طول فرق سری-نشیمناهی جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲ و کاهش معنی‌دار حجم جنینهای گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل گردیده است. بررسیهای بافتی کبد و قلب نشان داد که در تعداد مگاکاریوسیت کبد و فراوانی تعداد گلبول قرمز تمایز نیافته قلب و کبد جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲، ۱ نسبت به جنینهای گروه کنترل افزایش معنی‌دار به وجود آمده است. به علاوه بررسی ستون مهره در جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲، ۱ افزایش انحنا ستون مهره را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. بررسیهای مورفومتری نیز نشان داد که جنینهای گروه کنترل همگی از نظر ظاهری سالم اما در جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲، ۱ مواردی از خونریزی زیر پوست، افزایش غیرطبیعی انحنا ستون مهره و نیز کاهش تعداد جنین در هر بارداری مشاهده شد. در نتیجه این آزمایش مشخص شد که عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده احتمالاً می‌تواند بر رشد کمی جنینها و تمایز بعضی از سلولها تأثیر منفی داشته باشد با توجه به اثرات فیزیولوژیک گزارش شده برای فیزالین‌ها از جمله فیزالین F احتمال می‌رود بخشی از اثرات تراتوژنیک عصاره الکلی مربوط به این فیزالین‌ها باشد ولی برای نتیجه‌گیری قطعی و نهایی نیاز به تحقیقات کمی و کیفی بیشتری در این مورد می‌باشد. بنابراین به زنان باردار توصیه می‌شود تا تکمیل شدن تحقیقات در مورد این گیاه دارویی در زمان بارداری از این گیاه استفاده نمایند.

واژه‌های کلیدی: عصاره الکلی، عروسک پشت پرده، جنین، بارداری، ناهنجاری

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳۲-۵۲۴۷۱۴۶ پست الکترونیکی: nasimi\_m@yahoo.com

### مقدمه

عروسک پشت پرده نیز به عنوان یک گیاه دارویی در درمان محدوده وسیعی از بیماریها شامل مشکلات اداری، سنگ کلیه و مثانه، تب، التهاب، یبوست و آرتريت و

در عصر حاضر با توجه به اثرات درمانی و تأثیرات قابل توجه گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی بررسی اثر این گیاهان در دستور کار محققین قرار گرفته است.

روماتیسم به کار گرفته می‌شود. همچنین در طب سنتی به عنوان داروی سقط کننده جنین و ضد بارداری شناخته شده است (۳ و ۴).

اثرات درمانی این گیاه ناشی از وجود ترکیبات شیمیایی موجود در آن می‌باشد. عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده شامل زاگزانتین دی‌پالمیتات (یک ایزومراز لوتئینی و مشتقی از بتا کاروتن) به عنوان یک ترکیب فعال اصلی است که لکه زرد شبکه را از انحطاط حفظ می‌نماید (۱۹). همچنین گیاه شامل بعضی ترکیبات استروئیدی است که فیزالین نامیده می‌شود. اثرات ضد توموری فیزالین‌ها به ویژه فیزالین F در محیط آزمایشگاه و محیط زنده بر چندین دودمان سرطانی سلولهای خونی و بافتی انسانی و همین طور بر سلولهای سرطانی بافت حیوانی گزارش شده است (۷ و ۸) و نیز فعالیت ضد توموری فیزالین B, D در محیط زنده و آزمایشگاه علیه چندین دودمان سلول سرطانی گزارش شده است (۱۱) همچنین فعالیت ضد سلولی ضعیف فیزالین M روی سلولهای سرطانی هلا مورد بررسی قرار گرفته است (۱۵). برای گلیکوآلکالوئیدهای موجود در این گیاه اثرات ضد انگلی گزارش شده است (۱۸). از ویتافیزالین B، ویتافیزالین C و فیزالین B این گیاه در درمان اختلالات طحال و به عنوان داروی مدر و مسهل استفاده می‌شود (۱۴). خواص ضد استروژنی عصاره اتانولی می‌تواند ناشی از وجود گلیکوزید استروئید گیاه عروسک پشت پرده باشد (۲۱). آلكالوئیدهای موجود در گیاه از طریق مهار آنزیم توپوایزومراز II در فعالیت ضد توموری نقش دارند (۵ و ۱۸). همچنین فیزالین‌ها از خود فعالیتهای ضد تب نشان می‌دهند (۷ و ۸). اثر مهاری گلیکوآلکالوئید بعضی از Solanum ها نیز روی رشد تریپانوزوم کروزوی در محیط کشت گزارش شده است (۶). در ایران بررسیهای انجام شده توسط دکتر وصال و همکارانش نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره آبی میوه عروسک پشت پرده به موشهای صحرایی ماده ۱۰۰ درصد Diestrus ایجاد می‌کند و از تعداد نوزادان متولد

شده کاسته و سطح پروژسترون پلازما را کم می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم کراتین کیناز BB (پروتئین الفاء کننده استروژن) نیز مهار وابسته به زمان را نشان می‌دهد (۲۶). در ضمن تحقیقات نشان داده است که عصاره این گیاه منجر به مهار رهایش هورمون گنادوتروفین هیپوتالاموس و رها شدن هورمون لوتئینی کننده هیپوفیز با کاهش فعالیت گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز غده هیپوفیز، هیپوتالاموس، کبد و رحم گردیده است (۲۲ و ۲۵). در سال ۱۹۹۴ اثرات بیولوژیک عصاره آبی عروسک پشت پرده بر روی موشهای باردار در روزهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که عصاره آبی گیاه می‌تواند بر سیستم عصبی مرکزی و سقط جنین و نیز تغییر شکل اندامهای حرکتی تأثیرگذار باشد (۱).

در سال ۲۰۰۷ اثرات عصاره الکلی عروسک پشت پرده بر ناباروری موش صحرایی ماده مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که عصاره بر بارداری و تخمگذاری تأثیر منفی می‌گذارد (۱۷).

با توجه به این خواص درمانی تحقیق حاضر اثرات عصاره الکلی میوه این گیاه را بر میزان تولیدمثل و همین طور بر بعضی از شاخصه‌های رشد کمی جنین موش صحرایی مورد بررسی قرار می‌دهد.

### مواد و روشها

**حیوانات:** در این تحقیق ۲۰ سر موش رت ماده نژاد ویستار به وزن  $20.0 \pm 1.0$  گرم از مرکز سرم و واکسن سازی رازی کرج تهیه گردید. پس از انتقال به محل انجام آزمایش ۲۰-۱۵ روز به حیوانات فرصت داده شد تا با محیط جدید سازگاری پیدا کنند. حیوانات در شرایط دمایی ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط نوری استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و آب و غذا به صورت یکسان نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. حیوانات ماده

دقت ۰/۰۰۱ گرم، جنینها با استریومیکروسکوپ تحقیقاتی بررسی شدند.

**مطالعات بافت شناسی:** نمونه‌ها پس از فیکس شدن در فیکساتیو بوئن به مدت ۲۴ ساعت و آنگیزی با الکل اتیلیک از درجات نزولی به صعودی و شفاف شدن در تولوئن در پارافین قالب‌گیری شدند و سپس توسط میکروتوم با ضخامت ۷ میکرون برش‌گیری و با تکنیک رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند،

**روش آماری:** اطلاعات براساس آزمونهای آماری one-way- Anova و LSD با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 و سطح معنی‌دار ۰/۰۵ p < مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (اختلاف معنی‌دار بین گروهها به صورت ستاره نشان داده شد [۰/۰۵ p < (\*) و ۰/۰۱ p < (\*\*\*) و ۰/۰۰۱ p < (\*\*\*)].

میانگین و خطای معیار میانگین به صورت  $\bar{X} \pm \text{SEM}(\text{std error means})$  بیان گردید.

### نتایج

هدف این تحقیق بررسی اثرات عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده با دزهای متفاوت ۸، ۱۰، ۱۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان در دوران جنینی بر تغییرات مورفولوژیکی آنها و نیز بررسی اثر عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده بر تولیدمثل بود فاکتورهایی که در این رابطه مورد بررسی قرار گرفتند شامل اندازه وزن، حجم و طول فرق سری- نشیمنگاهی جنین و نیز تعداد فرزندان متولد شده بود نتایج نشان داد:

(۱) تمامی ۶۵ جنین موشهای گروه کنترل سالم بودند ولی در گروه تجربی یک، از ۵۶ جنین، ۴۱ جنین کاملاً سالم (۷۳/۲۱ درصد) و ۱۵ جنین خمیدگی غیر طبیعی ستون مهره (۲۶/۷۸ درصد) و ۱ جنین خونریزی زیر پوستی (۱/۷۸ درصد) را نشان دادند. از ۴۹ جنین گروه تجربی دو، ۳۱ جنین کاملاً سالم (۶۳/۲۶ درصد)، ۳ جنین

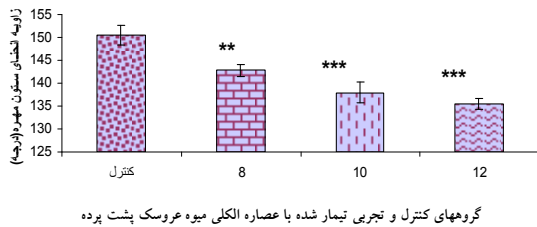
گروه کنترل و تجربی با حیوانات نر آمیزش داده شده (به نسبت ۱: ۳) و شاخص جفت‌گیری و بارداری مشاهده اسپرم در واژن در صبح روز بعد بود پس از مثبت شدن تست، حیوان ماده از بقیه حیوانات جدا گشته و آن روز، روز صفر بارداری حیوان در نظر گرفته شد. گروه کنترل غذای معمولی دریافت کردند گروه تجربی ۱ غلظت ۸g/kg، گروه تجربی ۲ غلظت ۱۰g/kg و گروه تجربی ۳ غلظت ۱۲g/kg عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده را در روز ۶ بارداری (به صورت تزریق داخل صفاقی و تک دز با احتساب درصد رطوبت و وزن بدن حیوان) دریافت کردند. **شناسایی و جمع‌آوری گیاه:** پس از جمع‌آوری گیاه از منطقه کلاردشت در شهریور ماه ۱۳۸۶ این گیاه توسط مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی سمنان مورد شناسایی قرار گرفت. میوه‌ها در شرایط آزمایشگاه خشک و پودر آن برای انجام عملیات عصاره‌گیری آماده شد.

**تهیه عصاره الکلی:** ۱۹۵۰ گرم پودر میوه گیاه عروسک پشت پرده به ۷۶۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در بشری که با سلفون کاملاً پوشانده شده بود در دمای اتاق قرار داده شد. هر ۱۲ ساعت یکبار محلول توسط شیکر تکان داده می‌شد. پس از طی این مدت زمان محلول با کاغذ صافی وات من شماره ۱ در قیف بوخنر با کمک پمپ خلاء صاف و سپس محلول صاف شده در دستگاه روتاری با دور چرخش ۶۰ و در حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و حجم نهایی به ۱۲۷/۵ میلی‌لیتر رسید، وزن عصاره ۱۵۱/۷۵۱ گرم و درصد رطوبت عصاره ۲۵ درصد محاسبه شد.

**اندازه‌گیری پارامترهای جنین:** در روز ۱۵ بارداری موشهای ماده باردار توسط کلروفرم بیهوش و تعداد ۲۱۷ جنین از رحم ۲۰ موش خارج شدند و پس از اندازه‌گیری طول فرق سری- نشیمنگاهی با کولیس، حجم جنین با لوله آزمایش مدرج و وزن آن توسط ترازوی دیجیتال با

نمودار ۳- مقایسه حجم جنین (میلی لیتر) در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده و گروه کنترل در روز ۱۵ بارداری. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده‌اند.

$p < 0.05$  (\*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل.



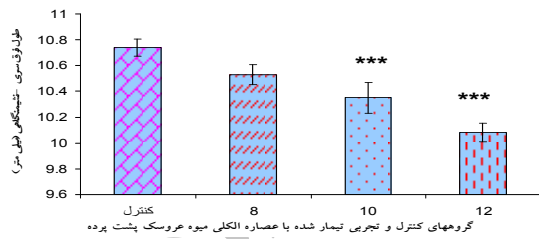
نمودار ۴- مقایسه میانگین و انحراف معیار زاویه انحنای ستون مهره (بین مهره‌های گردنی و سینه‌ای) جنینها در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده و گروه کنترل در روز ۱۵ بارداری. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده‌اند.

$p < 0.01$  (\*) و  $p < 0.001$  (\*\*\*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل.

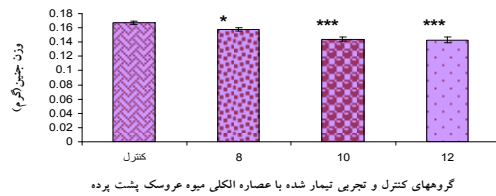
۲) یافته‌های به دست آمده از بررسی اندازه طول فرق سری - نشیمنگاهی جنینها نشان می‌دهد که در اندازه آن بین گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری به وجود نیامده است اما گروه تجربی ۲ و ۳ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار در سطح  $p < 0.001$  را نشان داده است (نمودار ۱). یافته‌های به دست آمده از بررسی میزان وزن جنینها نشان می‌دهد که گروه تجربی ۱ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار در سطح  $p < 0.05$  و گروه ۲ و ۳ کاهش معنی‌دار در سطح  $p < 0.001$  را نشان داده است (نمودار ۲). نتایج به دست آمده از بررسی اندازه حجم جنینها نشان می‌دهد که حجم جنین در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری ندارد اما گروه تجربی ۳ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار در سطح  $p < 0.05$  را نشان داده است (نمودار ۳).

۴) بررسی نتایج مطالعات انجام گرفته بر فراوانی تعداد گلبولهای قرمز هسته‌دار در قلب و کبد و تعداد مگاکاریوسیت کبد گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ و گروه کنترل نشان داده که در فراوانی تعداد گلبولهای قرمز هسته‌دار کبد

آتروفیه (۶/۱۲ درصد) و ۱۵ جنین خمیدگی غیر طبیعی ستون مهره (۳۰/۶۱ درصد) و ۱ جنین خونریزی زیر پوستی (۱/۴۴ درصد) را نشان دادند. از ۴۷ جنین گروه تجربی سه، ۲۲ جنین کاملاً سالم (۴۶/۸۰ درصد)، ۵ جنین آتروفیه (۱۰/۶۳ درصد) و ۲۰ جنین خمیدگی غیر طبیعی ستون مهره (۴۲/۵۵ درصد) و ۳ جنین خونریزی زیر پوستی (۶/۳۸ درصد) را نشان دادند (تصویر ۴).

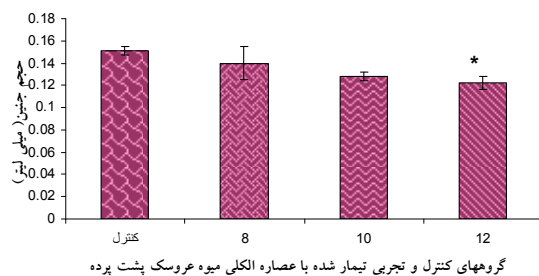


نمودار ۱- مقایسه اندازه طول فرق سری - نشیمنگاهی جنین (میلی‌متر) در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده و گروه کنترل در روز ۱۵ بارداری. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده‌اند.  $p < 0.001$  (\*\*\*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل.



نمودار ۲- مقایسه وزن جنین (گرم) در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ و ۳ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده و گروه کنترل در روز ۱۵ بارداری. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نشان داده شده‌اند.

$p < 0.05$  (\*) و  $p < 0.001$  (\*\*\*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل.

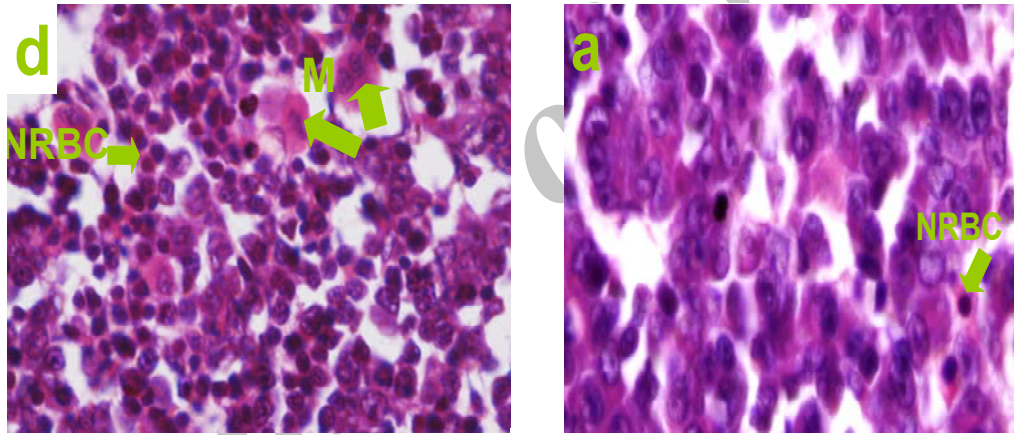


گروههای تجربی ۱، ۲ و ۳ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی دار در سطح  $p < 0.001$  بوجود آمده است.

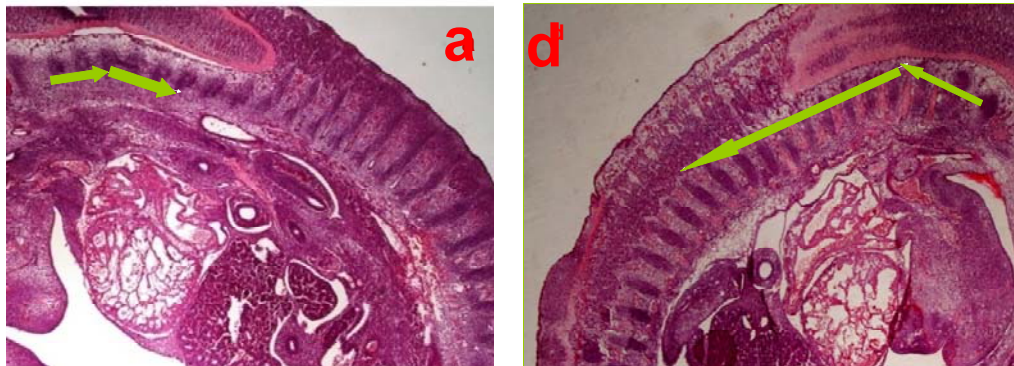
جدول ۱- نتایج تحلیل آماری تعداد گلبول قرمز هسته دار قلب و کبد و مگاکاریوسیت کبد جنینهای گروه تجربی ۱ و ۲ و ۳ و گروه کنترل ( $\bar{X} \pm SEM$ )

مشاهدات	تعداد مگاکاریوسیت کبد	تعداد گلبول قرمز هسته دار کبد	تعداد گلبول قرمز هسته دار قلب
تجربی ۱	$150 \pm 203$	$4604 \pm 1729$	$11086 \pm 3098$
تجربی ۲	$221 \pm 191$	$4627 \pm 1933$	$16134 \pm 3822$
تجربی ۳	$262 \pm 176$	$4635 \pm 200$	$19730 \pm 2575$
کنترل	$54 \pm 108$	$3494 \pm 1628$	$8486 \pm 2564$

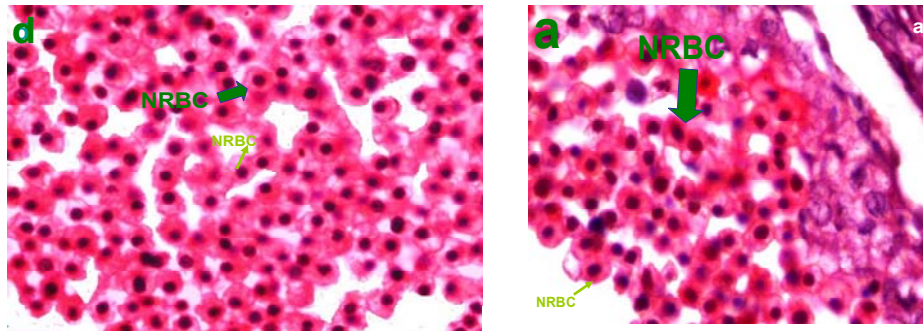
$p \leq 0.001$  (\*\*\*) نشان دهنده اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل.



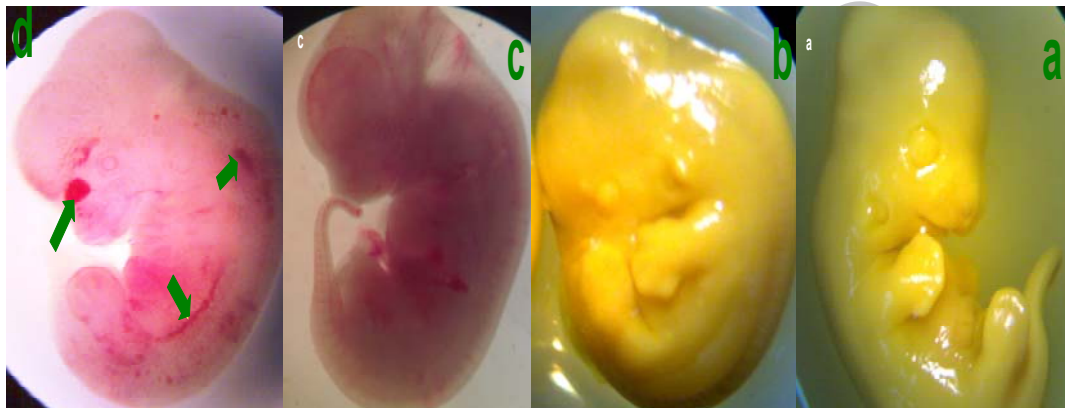
تصویر ۱- فتو میکروگراف از مقطع سهمی - میانی کبد جنین گروه کنترل (a) جنین گروه تجربی ۳ (d) در روز ۱۵ بارداری (بزرگنمایی  $\times 1000$ ). M. مگاکاریوسیت و Nondifferentiation Red Blood Cell (NRBC) فرمز تمایز نیافته (NRBC)



تصویر ۲- فتواستریومیکروگراف از مقطع سهمی - میانی زاویه انحناى ستون مهره (بین مهره های گردنی و سینه ای) جنین گروه کنترل (a) جنین گروه تجربی ۳ (d) در روز ۱۵ بارداری (بزرگنمایی  $\times 40$ ).



تصویر ۳- فتومیکروگراف از مقطع سهمی - میانی قلب در جنین کنترل (a) جنین گروه تجربی ۳ (d) در روز ۱۵ بارداری (بزرگنمایی ۱۰۰۰x). Nondifferentiation Red Blood Cell (NRBC) گلبول قرمز تمایز نیافته (NRBC).



تصویر ۴- استریوفتومیکروگرافی از جنین گروه کنترل (a) جنین گروه تجربی ۳ دارای خمیدگی غیر طبیعی اسکلت (b)، جنین کنترل (c) جنین گروه تجربی ۳ دارای خونریزی زیرپوست (d). [بزرگنمایی ۳۰x].

کنترل کاهش معنی دار در سطح  $p < 0/001$  به وجود آمده است (نمودار ۴، تصویر ۲).

### بحث

بر اساس نتایج ارائه شده تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده با غلظتهای ۱۰g/kg و ۱g/kg ۲ و ۳ روز بارداری منجر به کاهش تعداد فرزندان موجود در رحم مادر گردیده است. با توجه به بررسیهای انجام شده در موشهای باردار طبیعی که مشخص کرد افزایش غلظت پروژسترون سرم در بین روز ۱ تا ۴ و نیز بین روز ۱۰ تا ۱۵ بارداری است (۲۰) و با توجه به اینکه این هورمون برای حفظ آبستنی و جایگزینی جنین ضروری است و با استناد به نتایج به دست آمده از بررسیهایی انجام شده توسط وصال و همکارانش که نشان داد عصاره آبی میوه

نتایج به دست آمده از بررسی فراوانی تعداد گلبول قرمز هسته دار قلب جنینها نشان می دهد که افزایش معنی داری در سطح  $p < 0/001$  در تعداد گلبولهای قرمز هسته دار گروههای تجربی ۱ و ۲ نسبت به گروه کنترل به وجود آمده است (تصویر ۳). نتایج به دست آمده از بررسی تعداد مگاکاریوسیت های موجود در کبد جنینها نشان می دهد که در تعداد مگاکاریوسیت های کبد گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی دار در سطح  $p < 0/001$  به وجود آمده است (تصویر ۱، جدول ۱).

بررسی نتایج مطالعات انجام گرفته بر ستون مهره های جنینها در روز ۱۵ بارداری نشان می دهد که در زاویه انحنا ستون مهره ها (بین مهره های گردنی و سینه ای) گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار در سطح  $p < 0/01$  و در گروههای تجربی ۲ و ۳ نسبت به گروه



مشاهده است (۱) به طوری که برخی از بررسیها نقش ضد توموری فیزالین‌ها روی مهار رشد سلولهای سرطانی را از طریق توقف سلولها در فاز G2/M چرخه سلولی دانسته است در واقع تأثیر فیزالین‌ها از طریق کاهش بیان و فعالیت بعضی از سیکلین‌ها مثل CyclinA,B و کاهش فعالیت Cdc2 و افزایش فسفوریلاسیون Cdc2 انجام می‌گیرد. در سلول نرمال تشکیل Cdc2-cyclinB برای انتقال سلول از فاز G2 به M و برای ورود سلول به میتوز لازم است (۲۷). احتمال می‌رود که عصاره الکلی عروسک پشت پرده نیز منجر به توقف سیکل سلولی در مرحله G2/M شده باشد.

نتایج بررسی جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲ افزایش معنی- دار مگاکاریوسیت کبد را نسبت به گروه کنترل را در سطح معنی‌دار  $p < 0.001$  نشان داده است این نتیجه شاید دلیلی برای خونریزیهای زیر پوست باشد زیرا تمایز نیافتن این سلولها به پلاکت باعث کاهش پلاکت و در نتیجه خونریزیهای زیر پوست می‌گردد.

نتایج بررسی جنینها افزایش معنی‌دار گلبولهای قرمز تمایز نیافته (گلبول قرمز هسته‌دار) کبد و قلب جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲ را نسبت به گروه کنترل نشان داده است. مشاهده گلبولهای قرمز هسته‌دار در قلب و کبد جنینها نقش فعالیت سمیت سلولی عصاره را نشان می‌دهد نقش سمیت سلولی فیزالین B,F در گروه سلولهای سرطانی هیپاتوما و کم‌خونیهای حاد انسان بررسی شده این عمل از طریق مهار آنزیم توپوایزومراز II انجام می‌گیرد (۸)، ۱۶ و ۱۱). بررسیها نشان داده که در سلولهای سرطانی تیمار شده با فیزالین‌ها فعالیت کاسپاز ۳ افزایش یافته که فعالیت این پروتئاز آپوپتوزی تسهیم PARP (مارکر القاء کننده آپوپتوزیس) و شکستن کروموزوم زنجیره DNA و سرانجام آپوپتوزیس را القاء می‌کند (۲۷).

بررسیهای ریخت‌شناختی و بافت‌شناختی بر روی جنینهای گروه تجربی ۳ و ۲ و گروه کنترل نشان داد که چه از نظر ظاهری و چه در برشهای بافتی در ستون مهره‌های جنینهای

عروسک پشت پرده می‌تواند باعث کاهش سطح پروژسترون پلاسما و همچنین مهار آنزیم کراتین کیناز BB (پروتئین القا کننده استروژن) گردد (۲۳، ۲۴ و ۲۶) و نیز بررسیهایی که نشان داد عصاره آبی میوه عروسک پشت پرده به دلیل داشتن ترکیبات سیکلواستروئیدی با خاصیت ضد استروژنی می‌تواند فعالیت ۳ بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز تخمدان را مهار کند و از آنجا که ۳ بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز در سنتز پروژسترون نقش دارد می‌توان نتیجه گرفت که در این پژوهش احتمال دارد سطح پروژسترون پلاسما کاهش یافته باشد (۲۰) بنابراین در این پژوهش احتمال می‌رود دز ۱۰g/kg و ۱۲g/kg عصاره الکلی تزریقی به موشهای گروه تجربی ۳ و ۲ با کاهش هورمونهای جنسی در خون، از تعداد نوزادان متولد شده در موشهای گروه تجربی ۲ و ۳ کاسته باشد. همچنین این نتیجه احتمالاً نشان دهنده نقش عصاره الکلی عروسک پشت پرده در جلوگیری از تمایز سلولی است به طوری که برخی از بررسیها برای فیزالین‌ها و عصاره آبی عروسک پشت پرده نقش ضد توموری و فعالیت ضد سلولی از طریق تخریب DNA و مهار آنزیم توپوایزومراز II را توضیح می‌دهند (۵، ۹ و ۱۶).

بررسیهای انجام شده نشان داد که عصاره الکلی عروسک پشت پرده می‌تواند بر رشد کمی جنینها تأثیر گذار باشد به طوری که با افزایش دز در موشهای گروه تجربی از وزن، حجم و طول فرق سری - نشیمنگاهی جنینها کاسته شده و گروههای تجربی ۳ و ۲ نسبت به گروه کنترل در اندازه طول فرق سری - نشیمنگاهی کاهش معنی‌دار در سطح  $p < 0.001$  را نشان داده‌اند و همچنین گروههای تجربی ۱ در مورد وزن کاهش معنی‌داری در سطح  $p < 0.05$  را نسبت به گروه کنترل نشان داده‌اند و گروههای تجربی ۳ و ۲ کاهش معنی- داری در سطح  $p < 0.001$  را نسبت به گروه کنترل نشان داده‌اند. با توجه به انجام تزریقها در روز ۶ بارداری و با توجه به اینکه در این روز ارتباط جنین و مادر برقرار گردیده تأثیر این گیاه بر روی رشد جنین به خوبی قابل

و اغلب در بقیه مهره‌ها هم جوش خوردگی یا ناهنجاری شکلی وجود دارد (۲). ژن Pax1 نیز بعنوان یک ژن داوطلب در بد شکلی مهره و خمیدگی مادرزادی شناخته شده است و با بررسی توالی DNA در افرادی که در این ژن موتاسیون داشته‌اند مشخص شد که این موتاسیون باعث تغییر در آمینواسید می‌گردد و آمینواسید لوسین به جای پرولین قرار می‌گیرد (۱۲). بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده و بررسی‌های انجام شده احتمال می‌رود که عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده با تغییر در بیان ژن HoX و موتاسیون در ژن Pax1 توانسته باشد این خمیدگی غیر طبیعی را در ستون مهره‌ها ایجاد کرده باشد. هر چند که این مسئله احتیاج به مطالعه بیشتر دارد.

با مدنظر قرار دادن نتایج حاصل از این پژوهش و پژوهش‌های انجام شده در رابطه با عصاره آبی و الکلی گیاه می‌توان این چنین نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده به واسطه جلوگیری از تقسیم و تمایز سلولی و کاهش عملکرد بعضی از آنزیمها و هورمونها می‌تواند بر رشد کمی جنینها و تمایز بعضی از سلولها و نیز تعداد جنینهای بدنیا آمده تأثیر منفی داشته باشد.

تجربی ۳ و ۲ نسبت به جنین کنترل خمیدگی بیشتری دیده شده است این نتایج نیز احتمالاً مؤید نقش عصاره در جلوگیری از تقسیم و تمایز سلولی است به طوری که برخی از بررسیها نقش ضدتوموری و فعالیت ضد سلولی عصاره عروسک پشت پرده را توضیح می‌دهند (۵، ۹ و ۲۷). از طرفی بررسی‌های انجام شده در مورد بدشکلیهای ستون مهره نشان داده است که در این بد شکلیها فاکتورهای ژنتیکی در معرض آسیب بوده‌اند و این بدشکلیها بیشتر به دلیل تغییر در اشکال هومئوتیک و بیان ژن Hox بوده است و به نظر می‌رسد که بیان ژن Hox در این بد شکلیها محدود می‌شود (۱۰ و ۱۳). ژن Hox مسئول ایجاد شکلهای متفاوت مهره‌هاست. روند تشکیل و به دنبال آن بازآرایی قطعات اسکلتوتومی و تبدیل آنها به مهره‌های نهایی روندی پیچیده است و به طور نه چندان نادر اتفاق می‌افتد که دو مهره پشت سر هم به شکلی غیر قرینه جوش می‌خورند یا نیمی از یک مهره تشکیل نمی‌شود که خود باعث ایجاد خمیدگی جانبی ستون مهره‌ها می‌شود. همچنین تعداد مهره‌ها ممکن است زیاد یا کم باشند مثال نسبتاً بارز این ناهنجاریها در افراد مبتلا به ناهنجاری کلیل - فایل دیده می‌شود. در این افراد تعداد مهره‌های گردنی کم است

## منابع

- ۱- ترابزاده، پروین (۱۳۷۳). بررسی اثرات بیولوژیک عصاره آبی گیاه عروسک پشت پرده بر روی رشد و نمو جنین‌های موش نژاد Balb/c در روزهای ۵، ۴، ۳ و ۶ حاملگی. پایان نامه کارشناسی ارشد (علوم جانوری)، واحد تهران شمال.
- ۲- سادرت، ت.، صالحی، م.، (۲۰۰۴). جنین‌شناسی پزشکی لانگمن همراه با اطلس رنگی، ویرایش نهم، ص ۱۱۴-۱۲۲ و ۱۶۴.
- ۳- زرگری، علی، (۲۰۰۳). گیاهان دارویی، دانشگاه تهران، ص ۳۵۹۶-۳۵۹۵.
- 4-Amini, A. (2004). Dictionary of therapeutic plants. Tehran university, Tehran; 157-159.
- 5-Basey, K., Brain, A. (1992). Phygrine, an alkaloid from physalis species Phytochemistry. 31(12):4173-4176.
- 6-Chataing, B., Concepcion, J.I. (1998). Inhibition of Trypanosoma cruzi growth in vitro by solanum alkaloids: a comparison with ketoconazole. Planta Med; 64:31-6.
- 7-Chiang, H.C., Jaw, S.M. (1992). Antitumor agent, Physalin F from *Physalis angulata*. Anticancer Research, 12(3):837-843.
- 8-. Chiang, H.C., Jaw, S.M., Chen, P.M. (1992). Inhibitory effect of physalin B and physalin F on various human leukemia cells in vitro. Anticancer-Res. 4: 1155-62.
- 9-Dornberger, K. (1986). The Potential antineoplastic acting constituents of *physalis alkekengi*. Var. Franchetii Mart. Pharmazie. 41(4):265-8.



- 10-Faiella, A., Wernig, M. (2000). A mouse model For Valproate teratogenicity parental effects, homeotic transformations, and altered Hox expression. *Hum Mol Genet.* 9(2):227-36.
- 11-Ferrira, H.I., Veras, m.I. (2006). In-vitro and in-vivo antitumour activity of physalins B and D from *physalis angulata*. *Journal of Pharmacy and pharmacology*, 58(2):235-241.
- 12-Giampletro, P.F., Raggio, C.L. (2005). An analysis of PAX1 in the development of vertebral malformations. *Clinical Genetics.* 68(5):448-453.
- 13-Gillbert, s.f. (2003). Developmental biology. Part 2. Early embryonic development- chapter 11 early Mammalian Development.
- 14-Glotter, E., Hiroson, I. (1975). Steroidal constituents of *physalis minima* (Solanaceae). *J-Chem-Soc-Perkin-1*, 14:1370-4.
- 15-Kawai, M., Ogura, T. (1988). Structure of physalin M isolated from *physalis alkekengi* Var. Francheti. *Bull-Chem-Soc-JPN*. 61(7):2696-2698.
- 16-Lee, W.C., Lin, K.Y. (1991). Induction of heat-shock response and alterations of protein phosphorylation by a novel topoisomerase II inhibitor with angulation A, in 91 rat brain tumor cells. *J. Cell-Physiol.* 146(1):66-76.
- 17-Montaserti, A., Pourheydar, M. (2007). Anti-Fertility effects of *physalis alkekengi* alcoholic extract in female rat. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 5(1):13-16.
- 18-Tamaya, T., Sato, S. (1986). Possible mechanism of steroid action of the plant herb extracts glycyrrhizin, glycyrrhetic acid and paeoniflorin: inhibition by plant herb extracts of steroid protein binding in the rabbit. *Am.J. Ob-Gy*:155:1134-9.
- 19-Trieschmann M, et al., (2007). Changes in macular pigment optical density and serum concentration of its constituent carotenoids following supplemental lutein and zeaxanthin. *Experimental Eye Research*: 84(4):718-728
- 20- Vessal, M., Fathi, N., Khoshdel, Z. (2004). Effect of Aqueous Extract of *physalis Alkekengi* Fruits on the Activity of ovarian 3 beta-and 20 alpha- hydroxysteroid dehydrogenases in late pregnancy in rat. *Iran J Med Sci*: 29(4):175-179.
- 21- Vessal, M., Akmal, M. (1999). Thin layer chromatographic detection of steroid and alkaloid glycosides in *physalis alkekengi* fruits. *Arch Iranian Med*, 2:28-30.
- 22-Vessal, M., Rasti, M. (1996). Modulation of the pituitary and basomedial hypothalamic lysyl aminopeptidase activities by B-estradiol and/or an aqueous extract of *physalis alkekengi* Fruits. *Comp Biochem Physiol*:115B:267-71.
- 23-Vessal, M., Mostafavi-pour, Z. (1995). Age and sex dependence of effects of an aqueous extract of *physalis alkekengi* fruits on rat hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Comp Biochem Physiol*:111B:675-8.
- 24-Vessal, M., Rasti, M. (1995). Estradiol antagonistic effects of winter cherry extract on pituitary and hypothalamic G6pD activities. *Iranian J Med Sci*:20:152-8.
- 25-Vessal, M., Yazdani, M. (1995). Comparison of the effects of an aqueous extract of *physalis alkekengi* Fruits and/or various doses of 17-beta-estradiol on rat estrus cycle and uterine glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Comp Biochem Physiol* :112c:229-36.
- 26-Vessal, M., Mehrani, H.a. (1991). Effects of an aqueous extract of *physalis alkekengi* on estrus cycle reproduction and uterine creatine kinase BB-isozyme in rats. *J. Ethnopharmacol*: 34(1):69-78.
- 27-Wen-Tsong Hsieh., Kuan Huang. (2006). *Physalis angulata* Induced G2/M phase arrest in human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 974-983.

## The effects of an alcoholic extract of *Physalis alkekengi* fruit on reproduction and fetus in wistar rats

Nasimi M.<sup>1</sup>, Heydari Nasrabadi M.<sup>2</sup> and Shiravi A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Animal Developmental Biology Dept., Islamic Azad University, Damghan, I.R. of IRAN

<sup>2</sup>Biological Sciences Dept., Islamic Azad University, Parand Branch, Tehran, I.R. of IRAN

### Abstract

Today, one of the most important problem in society is the increasing rate of population. As far as, the study on the effect medicine plants is so important. Because some of the medicine plants plays an important role on reduction the reproduction. In this study the effect alcoholic extract of *Physalis alkekengi* fruit on rat's fetuses and measuring the rate of its effect on reproduction at the 15th day of pregnancy was investigated. Twenty female rat randomly divided in 4 groups including control, experimental 1, 2, 3 groups that each one included 5 rats. Experimental 1 group received 8g/kg body weight and experimental 2 group, 10g/kg body weight and experimental 3 group, 12g/kg body weight alcoholic extract of *physalis alkekengi* fruit at the 6<sup>th</sup> day of pregnancy. 217 fetuses removed from uterus at the 15<sup>th</sup> day of pregnancy to study according to morphologic and histologic. The present data showed that alcoholic extract *physalis alkekengi* fruit's intraperitoneal injection at the 6<sup>th</sup> day of pregnancy caused significant reduction fetuses weight in experimental groups and reduction of crown rump length in experimental 2, 3 groups in comparison with control group. Studies on liver and heart tissue indicated that the number of liver megakaryocytes and the number of liver and heart non-differentiation red blood cells in experimental 1 and 2, 3 groups have increased significantly in comparison with control group. Moreover study on fetuses vertebral column in experimental 1 and 2, 3 groups in comparison with control group shows a significant increase in vertebral column curvature. Also morphometry studies showed that all of embryos control group were healthy but in embryos experimental groups from example hypodermic bloodshed, abnormal increase vertebral column curvature and also number abortive embryo. Alcoholic extract *Physalis alkekengi* fruit probably can have negative effects on fetuses deficiency development and cell differentiation of some cells. According to reported physiological effects of physalins such as physalin F, alcoholic extract teratogenic effects might be related to physalin F. But it's essential to have more quantitative and qualitative researches in order to have conclusive result. Thus it is recommended to pregnant womenfolk than up to researches completion about this medicinal plant have not used this plant in pregnancy period.

**Keywords:** Alcoholic extract, *Physalis alkekengi*, Fetus, Pregnancy, Anomaly