

اثرات بیولوژیک عصاره‌ی آبی گیاه افدرا ماژور (*Ephedra major*) بر رشد و نمو کمی جنین‌های موش Balb/C در روزهای سوم تا ششم بارداری صغیرا صفاری^۱، دکتر پروین تراب زاده^۲، علی کریمی^۱

نویسنده‌ی مسئول: گروه زیست‌شناسی سلولی تکوینی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج p.torabzadeh@gmail.com

دریافت: ۹۵/۲/۲۶ پذیرش: ۹۵/۴/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: افدرا ماژور علاوه بر درمان پرفشاری خون و سرماخوردگی بر ضعف عضلانی نیز موثر می‌باشد. از آن جایی که تاکنون اثرات آن در دوران بارداری بررسی نشده است، در این پژوهش اثرات بیولوژیکی عصاره‌ی آبی گیاه افدرا ماژور بر روی رشد و نمو کمی جنین موش Balb/C در روزهای سوم تا ششم بارداری مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه ۵۰ سر موش به‌طور تصادفی به ۶ 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 تعیین و دوز تزریقی ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شد. تزریقات در روزهای ۳ تا ۶ به‌صورت درون صفاقی انجام و موش‌ها در روز ۱۵ بارداری تشریح شدند. برای اطمینان، تجربیات فوق‌۲ بار تکرار شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS۲۱ و تست Duncan مورد سنجش قرار گرفت. $P < 0/001$ سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تمام جنین‌ها آتروفیه شدند و کاهش ضخامت لایه‌ی میومتر و آشفتنگی در نظم طبیعی لایه‌ی آندومتر رحم نیز مشاهده شد. اما در دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌ی فرق سر-نشیمگاهی (CR)، وزن جنین و وزن جفت گروه تجربی در مقایسه با دیگر گروه‌ها کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: بر اساس مشاهدات، به نظر می‌رسد مصرف گیاه افدرا ماژور در دوران بارداری خطرآفرین است و علاوه بر سقط‌زایی، اثر منفی بر رشد و نمو جنین دارد که شاید بتوان در آینده از این خاصیت افدرا ماژور به عنوان قرص ضد بارداری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: افدرا ماژور، رشد و نمو جنین، وزن جفت، وزن جنین، جنین موش

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوارض جانبی آن‌ها استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌های گیاهی موجب دگرگونی قابل توجهی

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌ها همواره همراه بشر بوده است. مصریان قدیم را باید نخستین ملتی دانست که از گیاهان دارویی استفاده می‌کردند.

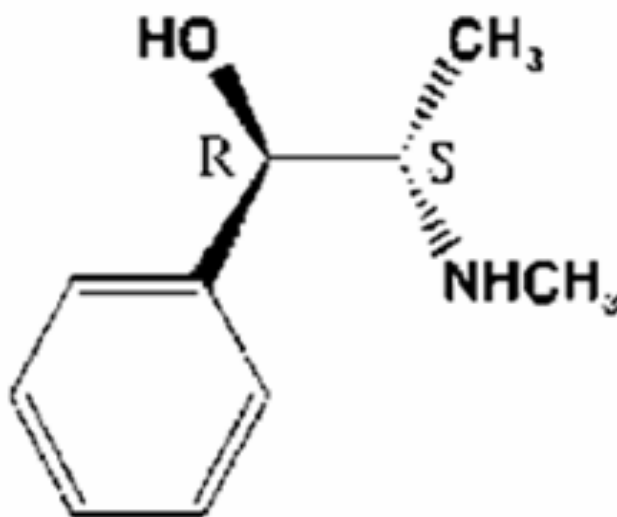
۱- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج

۲- دکترای تخصصی زیست‌شناسی سلولی تکوینی، استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج

در کلیه‌ی کشورهای جهان نسبت به شناسایی و تهیه‌ی مواد طبیعی و گیاهی و بازگشت به طبیعت شده است، به طوری که در اکثر کشورهای جهان، طب گیاه درمانی در دستور کار پژوهش‌های مجامع علمی قرار گرفته است. امروزه بیش از ۸۵ نوع داروی گیاهی به اشکال مختلف و با کیفیت مناسب وجود دارد که از نظر دارویی و خواص درمانی و مهم‌تر از آن از نظر عوارض جانبی احتمالی مورد بررسی قرار گرفته است (۱). اما با این حال عوارض جانبی احتمالی بسیاری از گیاهان دارویی که به صورت سنتی مصرف می‌شود مورد بررسی و پژوهش قرار نگرفته است. هدف از این کار تحقیقاتی مشخص کردن اثرات بیولوژیک عصاره‌ی گیاه *افدرا ماژور* بر جنین موش‌های آزمایشگاهی نژاد Balb/C می‌باشد. گیاه *افدرا ماژور* دارای خواص درمانی بسیاری است که به عنوان داروی سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات بسیاری بر روی خواص بیولوژیکی مواد موثره‌ی موجود در این گیاه انجام شده و اثرات آن بر روی سیستم قلبی و عروقی و افزایش فشار خون، سیستم تنفسی و مجاری هوایی (۲)، سیستم عصبی مرکزی و افزایش سطح هوشیاری (۳) و کاهش وزن (۴) و همچنین اثرات ضد ویروسی، ضد باکتریایی (۵) آن به تایید رسیده است. به طور مثال فرسین و همکارانش در سال ۲۰۰۱ به این نتیجه رسیدند که این گیاه دارای اثرات باز دارندگی بر فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌ها است (۶). روستائیان و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در فعالیت پژوهش خود نشان دادند که این گیاه فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نیز دارد (۷). بوزر و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان کردند عصاره‌ی گیاه *افدرا ماژور* همراه با کافتین سبب کاهش وزن بدن، چربی بدن و LDL کلسترول و همچنین سبب افزایش HDL کلسترول و ضربان قلب می‌گردد (۸). الغرویو همکارانش در سال ۲۰۱۱ به این نتیجه رسیدند که از پودر گیاه *افدرا* می‌توان به عنوان یک کنترل کننده‌ی غیر شیمیایی آلودگی افلاتوکسین استفاده کرد (۹). اما با این حال هیچ پژوهشی بر اثرات این گیاه روی

جنین و اثر آن بر روی روند شکل‌گیری جنین انجام نشده است. به همین دلیل هدف اصلی این پژوهش بررسی اثرات بیولوژیک عصاره‌ی آبی گیاه *افدرا ماژور* بر رشد و نمو جنین‌های موش Balb/C در روزهای سوم تا ششم بارداری است. گیاه *افدرا ماژور* از خانواده‌ی *افدراسه* با نام‌های فارسی (ارمک، ریش بز) و نام لاتین (*Ephedra major*) و نام‌های 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 غلاف غشایی و سفید رنگ، و گل‌های منفرد یا مجتمع، میوه‌ی رسیده آن مدور یا تخم مرغی با براکته‌های گوشتی قرمز یا متمایل به زرد می‌باشد. زمان گل دهی گیاه *افدرا ماژور* در اردیبهشت ماه و اوایل تابستان و زمان رسیدگی میوه‌ها در تابستان می‌باشد. این گیاه در نقاط مختلف ایران و جهان دیده شده است (۱۰ و ۱۱). با توجه به مطالعات انجام شده، شواهد حاکی از آن است که ماده موثره گیاه *افدرا ماژور* افدرین است که بر قسمت‌های مختلف بدن اثرگذار است. از نظر بیوشیمیایی مهم‌ترین مواد موجود در گیاه *افدرا ماژور* آلکالوئیدها هستند (۱۲) و مهم‌ترین آلکالوئید موجود در گیاه *افدرا ماژور* افدرین می‌باشد که از گروه آلکالوئیدهای آمینی فاقد اتم ازت در حلقه‌ی هتروسیکلیک است. آلکالوئیدهای آمینی در اکثر موارد از مشتقات ساده فنیل آمین بوده و از این رو از اسید آمینه معمولی مانند فنیل آلانین و یا تیروزین مشتق می‌شوند. افدرین، آلکالوئیدی است که به مقدار زیاد از انواع گیاهان *افدرا* به روش‌های شیمیایی که شامل احیا و ترکیب ال-۱-استیل کاربینول و متیل آمین است به دست می‌آید. به این طریق می‌توان ال-افدرین خالص به دست آورد. افدرین در گیاه *افدرا* معمولاً به صورت چپ گرد وجود دارد که به صورت یک آمینوالکل بوده و فرمول شیمیایی آن در (شکل ۱) نشان داده شده است و البته خیلی نزدیک به فرمول شیمیایی آدرنالین است. علاوه بر افدرین، آلکالوئیدهای دیگری از جمله پزودوافدرین، نورافدرین، نورپزودوافدرین،

مصرف این گیاه بر روی جنین از دمنوش‌ها و چای و حتی قرص‌های آن برای برطرف شدن علائم سرماخوردگی و سرفه و تب و هضم بهتر غذا به دفعات استفاده می‌نمایند که مصرف آن در دوز بالا می‌تواند خطرناک باشد. به این دلیل بر آن شدیم تا این گیاه را در دوران بارداری مورد آزمایش قرار داده و اثرات بیولوژیک احتمالی آن را روی رشد و نمو جنین موش Balb/C مورد بررسی قرار دهیم.



شکل ۱: ساختار شیمیایی افدرین (۱۰)

منظور به دست آوردن محلول شفاف از کاغذ صافی واتمن شماره‌ی یک توسط قیف بوختر تحت شرایط خلاء عبور داده شد. محلول در حرارت ملایم تغلیظ گردید تا حجم نهایی آن به ۲۰ میلی‌لیتر برسد. به این ترتیب عصاره‌ی آبی گیاه به دست آمد که هر میلی‌لیتر آن عصاره ۵۰ میلی‌گرم پودر قسمت هوایی گیاه را دارا بود. جهت بررسی اثرات بیولوژیک عصاره‌ی 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 بودند، استفاده گردید. کوچکی اندازه، کوتاه بودن دوره‌ی حاملگی و ایجاد

متیل افدرین و متیل پزودوافدرین در گیاه افدرا یافت می‌شود. مقدار آلکالوئیدها بر حسب منشأ جغرافیایی، شرایط اقلیمی و زمان برداشت محصول متفاوت می‌باشد. معمولاً مقدار افدرین چپ و پزودوافدرین راست از سایر آلکالوئیدها بیشتر است (۱۳). گیاه افدرا مازور جزء دسته‌ای از گیاهان دارویی بوده که به دلیل خواص درمانی آن بسیار مورد توجه و در دسترس است. خانم‌های باردار بدون توجه به عوارض احتمالی

روش بررسی

در این پژوهش پس از جمع‌آوری قسمت هوایی گیاه افدرا از کوه‌های کلاک واقع در استان البرز، گیاه به‌مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و در آزمایشگاه دانشگاه کرج نگهداری و به دور از نور خورشید خشک شد. پس از خشک شدن کامل، گیاه توسط آسیاب برقی به‌صورت پودر در آمد. به منظور تهیه‌ی عصاره‌ی آبی مقدار ۱۰۰۰ میلی‌گرم پودر قسمت هوایی گیاه در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت یک ساعت آهسته جوشانده شد. سوسپانسیون حاصله از صافی پارچه‌ای و سپس توسط کاغذ صافی معمولی و پس از آن به

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 دو چشمی نوری و استریوفتومیکروسکوپ با بزرگنمایی XX28۱۰۰ 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 ۲ بار تکرار شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ۲۱ و تست Duncan با شرط $P < 0/001$ مورد سنجش قرار گرفت. شاخص‌های مورد نظر شامل میانگین، انحراف معیار و آنالیز واریانس مشخص شده است.

یافته‌ها

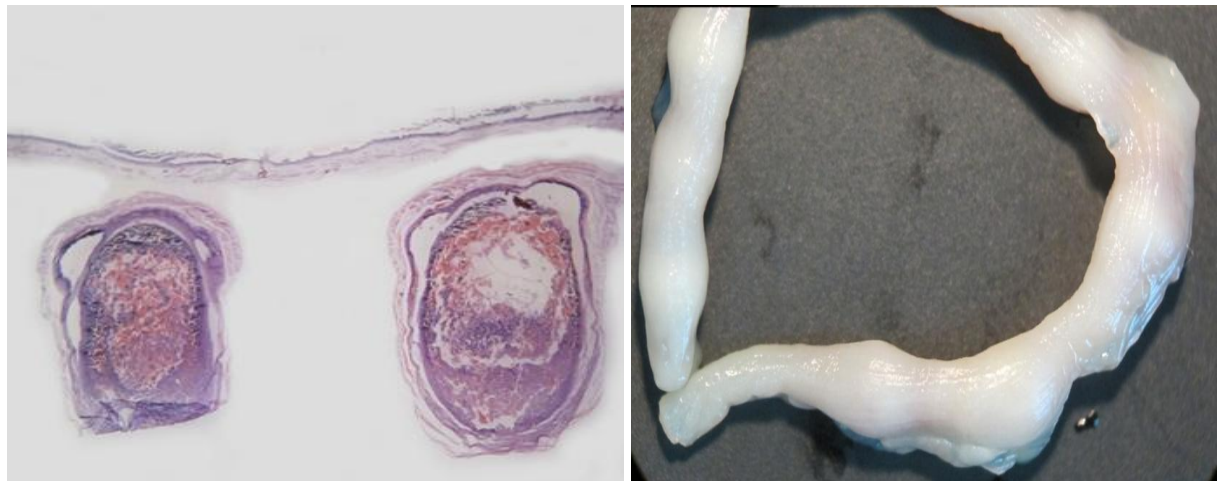
بر اساس نتایج به دست آمده تمامی جنین‌های تزریقی با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای سوم تا ششم آتروفیه شدند و تمامی جنین‌ها در اثر تزریق عصاره‌ی آبی شرایط مناسب تقسیم و تمایز سلولی را از دست داده و رشد و تمایز در جنین‌های موش Balb/C متوقف شده بود. طی بررسی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی تغییراتی در رحم و بافت رحمی موش‌های تجربی مشاهده شد که سبب آتروفیه شدن جنین در این دوز بوده است. و کاهش ضخامت لایه‌ی میومتر و آشفستگی در نظم طبیعی لایه‌ی آندومتر رحم نیز در این گروه تجربی مشاهده شده است (شکل ۲).

با توجه به اینکه صددرصد جنین‌ها در سری آزمایشات انجام شده با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آتروفیه شدند. به‌منظور بررسی بیشتر و بهتر اثر عصاره‌ی آبی گیاه *فدرا* ماژور بر روی جنین‌ها دوز تزریقی کاهش داده شد و بار دیگر آزمایش‌ها با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای سوم تا ششم بارداری با ۲ بار تکرار انجام شد. در مجموع موش

جنین‌های متعدد در هر بار زایمان از مزایای استفاده از این نوع نژاد در کار تحقیقاتی مورد نظر بود. موش‌های آزمایشگاهی از موسسه‌ی سرم و واکسن‌سازی حصارک کرج خریداری با رعایت شرایط حرارتی 21 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی 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 به‌طور مرتب شست‌وشو و ضد عفونی می‌شدند. در این مطالعه ۵۰ سر موش به‌طور تصادفی به ۶ گروه مساوی، کنترل (عدم تزریق)، شم (تزریق آب مقطر) و ۴ گروه تجربی تقسیم شدند و تمامی گروه‌ها از لحاظ نوع آب و غذا و تمامی شرایط زندگی یکسان بودند. به‌منظور تعیین نمودن روزهای مشخص حاملگی، موش‌های نر و ماده بالغ ۲/۵ تا ۳ ماهه با وزن ۲۴ تا ۲۸ گرم برای آمیزش به روش پلی گامی در قفس‌های ویژه موش‌های کوچک آزمایشگاهی قرار داده شدند و با مشاهده‌ی 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 عصاره‌ی آبی گیاه *فدرا* ماژور ابتدا مقدار دوز کشنده (LD50) با استفاده از روش انتگراسیون دوپل در شرایط *in vivo* ۳۰۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین گردید و عملیات تزریق درون صفاقی (IP) سریع و با کمترین استرس‌زایی در روزهای سوم تا ششم بارداری با دوزهای ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام گردید. کلیه‌ی موش‌ها در روز ۱۵ بارداری به کمک کلروفرم به‌صورت 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 آمنیون اطراف جنین‌ها به دقت جدا گردید. پس از شست و شوی جنین‌ها در سرم فیزیولوژی، به کمک کولیس

و جفت گروه تجربی در مقایسه با گروه‌های کنترل و شم وجود داشته است ($P < 0/001$).

ماده بالغ باردار پس از تزریق عصاره و تشریح مورد بررسی قرار گرفت و نتایج مشخص نمود که کاهش در اندازه‌ی فرق سر- نشیمنگاهی (CR)، وزن جنین



شکل ۲: استریوفتومیکرگراف در دوز تزریقی 500 mg/kg.bw . سمت راست: رحم تجربی حاوی جنین آتروفیه ($X28$) سمت چپ: برش از مقطع عرضی رحم حاوی جنین آتروفیه ($\times 100$)

در اندازه‌ی فرق سر- نشیمنگاهی (CR)، وزن جنین و جفت گروه تجربی را در مقایسه با گروه‌های کنترل نشان می‌دهد (جداول ۱ تا ۴).

نتایج تحلیل آماری و تجربیات روز سوم تا ششم (انحراف معیار \pm میانگین) با دوز تزریقی ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت جدول تهیه شده است، این روند کاهش

جدول ۱: نتایج تحلیل آماری تجربیات روز سوم (انحراف معیار \pm میانگین)

مشاهدات	وزن جنین (gr)	وزن جفت (gr)	اندازه CR (mm)
تجربی (دوز تزریقی 300 mg/kg.bw)	$0/284 \pm 0/087^*$	$0/105 \pm 0/023^*$	$13/70 \pm 0/991^*$
Sham (تزریق آب مقطر)	$0/462 \pm 0/014$	$0/149 \pm 0/005$	$15/01 \pm 0/167$
کنترل (بدون تزریق)	$0/480 \pm 0/213$	$0/158 \pm 0/005$	$15/20 \pm 0/437$
P	$P < 0/001^*$	$P < 0/001^*$	$P < 0/001^*$

جدول ۲: نتایج تحلیل آماری تجربیات روز چهارم (انحراف معیار \pm میانگین)

مشاهدات	وزن جنین (gr)	وزن جفت (gr)	اندازه CR (mm)
تجربی (دوز تزریقی ۳۰۰ mg/kg.bw)	۰/۲۹۴±۰/۰۴۰*	۰/۱۰۹±۰/۰۱۴*	۱۳/۴۴±۰/۰۹۹*
Sham (تزریق آب مقطر)	۰/۴۶۹±۰/۰۱۸	۰/۱۵۰±۰/۰۳۳	۱۵/۰۸±۰/۰۶۹
کنترل (بدون تزریق)	۰/۴۸۰±۰/۰۲۱۳	۰/۱۵۸±۰/۰۰۵	۱۵/۲۰±۰/۰۴۳۷
P	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*

جدول ۳: نتایج تحلیل آماری تجربیات روز پنجم (انحراف معیار \pm میانگین)

مشاهدات	وزن جنین (gr)	وزن جفت (gr)	اندازه CR (mm)
تجربی (دوز تزریقی ۳۰۰ mg/kg.bw)	۰/۴۰۲±۰/۰۵۶*	۰/۱۲۸±۰/۰۵۳*	۱۴/۱۸±۰/۰۷۶۸*
Sham (تزریق آب مقطر)	۰/۴۷۰±۰/۰۱۷	۰/۱۵۷±۰/۰۱۱	۱۵/۱۰±۰/۰۶۹۵
کنترل (بدون تزریق)	۰/۴۸۰±۰/۰۲۱۳	۰/۱۵۸±۰/۰۰۵	۱۵/۲۰±۰/۰۴۳۷
P	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*	P<۰/۰۰۱*

جدول ۴: نتایج تحلیل آماری تجربیات روز ششم (انحراف معیار \pm میانگین)

مشاهدات	وزن جنین (gr)	وزن جفت (gr)	اندازه CR (mm)
تجربی (دوز تزریقی ۳۰۰ mg/kg.bw)	۰/۳۹۱±۰/۰۴۵*	۰/۱۲۵±۰/۰۲۰*	۱۴/۶۸±۰/۰۷۰۸*
Sham (تزریق آب مقطر)	۰/۴۷۸±۰/۰۲۱	۰/۱۵۸±۰/۰۱۰	۱۵/۱۲±۰/۰۵۷۲
کنترل (بدون تزریق)	۰/۴۸۰±۰/۰۲۱۳	۰/۱۵۸±۰/۰۰۵	۱۵/۲۰±۰/۰۴۳۷
P	P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱

بحث

و نمو کمی جنین موش Balb/C در روزهای سوم تا ششم بارداری مورد بررسی قرار داد. اهداف اصلی که در این تحقیق

این پژوهش یک مطالعه‌ی پایلوت بود که برای اولین بار اثرات بیولوژیکی عصاره‌ی آبی گیاه افدررا ماژور بر روی رشد

به گونه‌ای شباهت دارد. میزان اثر گذاری عصاره‌ی آبی در روزهای سوم تا ششم نشان داده که تمایز و تقسیم بلاستوسیت‌ها دچار اختلال شده و به احتمال زیاد عصاره‌ی گیاه و مواد موثره آن به‌خصوص افسدرین نقش بسزایی در تمایز و تقسیم سلولی داشته است. احتمالاً افسدرین بیان ژن‌های **Chordin** و **Noggin** موش را تحت تاثیر قرار داده و بیان آنها را با مشکل مواجه کرده است. همچنین این ماده موثره می‌تواند با اختلال در عملکرد فاکتورهای رشد از جمله **TGF-β**، سبب بروز تغییرات نامطلوبی در رشد و نمو کمی جنین در طی دوره‌ی باروری شود. بر اساس آزمایش‌های انجام شده در مطالعه‌ی حاضر و وجود تغییرات شاخص‌های کمی مورد نظر که در جدول‌های ۱ تا ۴ مشخص شده است، می‌توان به نقش عصاره‌ی آبی گیاه افسدر در مهار رشد و نمو با مصرف دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کاهش معنی‌دار $P < 0/001$ در اندازه‌ی **CR** و وزن جنین و وزن جفت جنین‌های تجربی ۱۵ روزه در مقایسه با گروه‌های کنترل مربوطه از تجربیات روزهای ۴، ۵ و ۶ حاملگی اشاره نمود. هورمون رشد (**GH**) توسط غده‌ی هیپوفیز ترشح و در رشد و شکل‌گیری استخوان‌ها نقش مهمی دارد، این هورمون بر رشد اندام‌ها نیز اثر گذار است (۱۵). با توجه به نتایج به‌دست آمده از تزریق عصاره‌ی آبی گیاه/افسدر/ماژور در روزهای مختلف بارداری موش **Balb/C** و رابطه‌ی کاهشی که در اندازه‌ی فرق سر- نشیمنگاهی (**CR**) جنین‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد و در جدول ۱ نمایش داده شده است و می‌توان گفت که افسدرین بر روی هورمون رشد و غده‌ی هیپوفیز اثر مهاری داشته است. اما با این حال نتایج مطالعه‌ها درباره‌ی وزن جنین که در جدول ۲ و وزن جفت در جدول ۳ که همراه با گروه‌های تجربی و کنترل در روزهای مختلف مشخص گردیده است، نشان داده شده که وزن جفت و جنین در روز پنجم حاملگی از سایر روزها بیشتر است. علت این که وزن جنین در روزهای ۳ و ۴ کمتر و در روزهای

بررسی گردید، اثرات این عصاره بر روی متغیرهای مربوط به رشد و نمو جنین در طول بارداری موش بود. با مشاهده‌ی نتایج میزان مسمومیت و نواحی عملکرد در سطح سلولی، بافتی و اندامی و اثرات منفی بر رشد و نمو کمی و نیز سقط زایی پس از تزریق عصاره‌ی آبی افسدر در دوز کمتر و بیشتر از دوز کشنده مشخص شد 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** به‌میزان ۳۰۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شد. عصاره‌ی آبی گیاه/افسدر/ماژور همان‌طور که ذکر شد به روش درون صفاقی به موش‌های بالغ ماده تزریق گردید، زیرا در این روش ماده به‌سرعت جذب صفاق احشایی و سپس وارد کبد و سیستم گردش خون می‌شود. با وجود تزریقات ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روزهای سوم تا ششم بارداری، جنین‌ها به میزان ۱۰۰ درصد آتروفیه شده و می‌توان به نقش عصاره در جلوگیری از تقسیم و تمایز سلولی و مهار آنزیم توپوایزومراز **II** و تخریب **DNA** اشاره کرد. طبق بررسی‌های انجام شده راداکوویچ و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نقش مهاری افسدرین در گیاه افسدر را بر روی مهار کننده‌های همانند سازی **DNA** توضیح می‌دهد. مهار کننده‌های همانند سازی **DNA** زمانی فعال می‌شود که رونوشت نادرستی از **DNA** ایجاد شده باشد، این مهار کننده‌ها از ادامه‌ی روند همانند سازی ناقص جلوگیری می‌کنند. افسدرین با مهار کردن، این مهار کننده‌های همانند سازی **DNA**، باعث همانند سازی نادرست **DNA** شده و می‌تواند انواعی از جهش‌های ژنتیکی و ناهنجاری‌ها را اعمال کند (۱۴) این نتایج با یافته‌های تجربی حاصل شده از مطالعه‌ی حاضر به‌دلیل سقط زایی و وجود آنومالی‌های ایجاد شده در جنین‌ها از جمله ناهنجاری‌های اگزانسفالی، اگزوهپاتیک، اگزوفتالمی، پولیپ، انحراف در اندام حرکتی و نیز خونریزی که در بخش‌های مختلف بدن مشاهده شد

می‌باشد، البته شایان ذکر است که نوع نمونه‌ی مورد سنجش این دو مطالعه متفاوت است (۱۶). مطالعه‌ی پورصغری 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 عصاره‌ی مصرفی، از نظر روش انجام آزمایش و جامعه‌ی نمونه با تحقیق حاضر شباهت داشته است (۱۷). در مطالعه‌ی دارای و همکارانش در سال ۲۰۱۶ مشخص شد مصرف برخی گیاهان علاوه بر داشتن خواص درمانی می‌تواند در دوران بارداری خطر آفرین باشد. این مطالعه ضمن تفاوت در گیاه مورد مطالعه نتایج مشابه‌ای از نظر بروز اختلال در عوامل رشد و نمو جنین موش را بیان کرده است (۱۸). در نتایج تحقیقات طاهری و همکارانش در سال ۲۰۰۲ ضمن تفاوت نوع نمونه‌ی مصرفی از نظر روش کار و بروز اختلالات رشد و نمو در جنین موش و احتیاط در مصرف مواد غذایی در دوران بارداری با مطالعه حاضر به گونه‌ای مشابهت دارد (۱۹).

نتیجه گیری

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. مشاهدات نشان داده است که عصاره‌ی آبی گیاه *افدرا ماژور* در دوران بارداری سبب کاهش ضخامت لایه میومتریموم و آشفستگی در نظم طبیعی لایه‌ی آندومتر رحم و وجود جنین آتروفیه می‌شود که می‌تواند باعث نشانه‌هایی از توقف بارداری شود. در مجموع باتوجه به مطالعات و آزمایشات انجام شده و ناهنجاری‌های مشاهده شده می‌تواند به این نتیجه رسید که عصاره‌ی آبی گیاه *افدرا ماژور* می‌تواند اثر نامطلوبی بر رشد و نمو جنین و نیز سقطزایی داشته باشد. در این پژوهش به وضوح اثرات ناباروری افدرین بر روی

۵ و ۶ بیشتر بوده است را می‌توان این گونه توضیح داد که روزهای ۳ و ۴ روزهای قبل از لانه‌گزینی است و چون جنین هنوز در رحم جایگزین نشده است و در این زمان جنین حساس‌تر و آسیب‌پذیرتر است نسبت به روزهای ۵ و ۶ که روزهای بعد لانه‌گزینی می‌باشد و در این روزها جنین در رحم جایگزین شده و در معرض خطر و آسیب کمتری می‌باشد. نتایج نشان داده که تزریق عصاره در روزهای قبل لانه‌گزینی نسبت به روزهای بعد از آن اثرات منفی بیشتری بر روی جنین به جا گذاشته است و می‌توان اظهار داشت که روزهای ۳ و ۴ روزهای بحرانی برای جنین می‌باشد و به‌خصوص اثر منفی افدرین در این روزها بر روی جنین بیشتر است. با توجه به تحقیق حاضر و نتایجی که به‌دست آمده می‌توان چنین تفسیر نمود که در عصاره‌ی آبی گیاه *افدرا ماژور* ترکیباتی وجود دارند که دارای ساختمان استروئیدی می‌باشند که به راحتی می‌توانند از DNA غشا 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 اظهار داشت که ممکن است مصرف این گیاه در دوران بارداری دلیلی برای سقطزایی و ایجاد ناهنجاری در جنین شده و می‌تواند در جلوگیری از حاملگی‌های ناخواسته با توجه به زمان و مقدار دوز مصرفی عصاره، موثر واقع شود. افدرین موجود در گیاه *افدرا* با ایجاد نقص در عملکرد فاکتورهای *Wnt* و *FGF10* می‌تواند روند تمایز را دچار اختلال کند و مستقیماً بر مرحله اندام زایی جنین موش اثر گذار باشد. وجود جنین‌های آتروفی که همراه با ناهنجاری‌های شدید که قادر به زنده ماندن نبودند، نشان می‌دهد که ماده موثره‌ی گیاه *افدرا* توانسته اختلالاتی در روند سلامت جنین‌ها ایجاد کند که با اظهارات بکر و همکارانش در سال ۱۹۹۷ که اعلام مسمومیت کشنده‌ی *افدرا* در انسان را داشته‌اند، همخوانی داشته است و تاییدی دیگر برای صحت نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی حاضر

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.

دوره‌ی بارداری و جنین نشان داده شده است، اما با این حال برای بررسی بهتر و دقیق‌تر و تحقیقات گسترده‌تر، به‌خصوص در زمینه‌ی ژنتیکی و بیان اختلالات ژنی ایجاد شده ناشی از گیاه/افدرا مائور و افدرین مورد نیاز است.

References

- 1- Mousavi A. Medicinal plants of Zanjan Province. *J Medicinal and Aromatic Plants*. 2004; 20: 345-68.
- 2- Drew CD, Knight GT, Hughes DT, Bush M. Comparison of the effects of D(-)-ephedrine and L-(+)-pseudoephedrine on the cardiovascular and respiratory systems in man. *Br J Clin Pharmacol*. 1978; 6: 221-25.
- 3- Williams AD, Cribb PJ, Cooke MB, Hayes A. The effect of ephedra and caffeine on maximal strength and power in resistance-trained athletes. *J Strength and Conditioning Research*. 2008; 22: 464-70.
- 4- Song M, JANG H, Lee B. Beneficial effect of dietary *Ephedra sinica* on obesity and glucose intolerance in high-fat diet-fed mice. *J Exper Therapeutic Med*. 2012; 3: 707-12.
- 5- Torabzadeh P, Panahi P, Sabokbar A, Mokhtari A. Antibacterial activity evaluation of *Ephedra* Major Host acetonic, aqueous and alcoholic extracts against standard strains of *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *S. pyogenes*. *J Comparative Pathobiol*. 2009; 6: 91-8.
- 6- Feresin GE, Tapia A, López SN, Zacchino SA. Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentine. *J Ethnopharmacology*. 2001; 78: 103-7.
- 7- Rustaiyan AH, Javidnia K, Farjam AH, Aboee-Mehrizi F, Ezzatzadeh E. Antimicrobial and antioxidant activity of the *Ephedra sarcocarpa* growing in Iran. *J Medicinal Plants Research*. 2011; 5: 4251-55.
- 8- Boozer CN, Daly PA, Homel P, et al. Herbal ephedra/caffeine for weight loss: a 6-month randomized safety and efficacy trial. *J Obesity*. 2002; 26: 593-604.
- 9- Al-Qarawi AA, Abd Allah EF, Hashem A. Effect of *Ephedra alata* on nucleic acids and nitrogen metabolism of seedborne *Aspergillus flavus* *J Botany*. 2012; 44: 425-28.
- 10- Lee MR, The history of Ephedra, *J R Coll Physicians Edinb*. 2011; 1: 78-84.
- 11- Zargari A. Medicinal Plants. *Tehran University Publications*. 1994; P: 680.
- 12- Ibragic S, Sofic E. Chemical composition of various *Ephedra* species. *J Bosnian Basic Med Sci*. 2015; 15: 21-7.
- 13- Ying-Mei L, Shuenn-Jyi Sh, Determination of ephedrine alkaloids by capillary electrophoresis. *J Chromatography A*. 1992; 600: 370-72.
- 14- Radakovic M, Djelic N, Stanimirovic Z. Plecas-solarovic, evaluation of the effects of

ephedrine on human lymphocytes in the comet assay. *J Acta Veterinaria*. 2011; 61; 363-71.

15- Scott F Gilbert. Developmental biology. Translated by: Baharvand H, 8th Edition, Sunderland, Massachusetts. 2011; 370-390.

16- Backer R, Tautman D, Lowry S, Harvey CM, Poklis A. Fatal ephedrine intoxication. *J forensic sciences*. 1997; 42: 157-9.

17- Poorsughra B, Javidnia K. The effect of aqueous extract of safflower on the incidence of

eyes abnormalities in mouse embryo. *J Zanzan Univ Med Sci*. 2003; 11: 27-31.

18- Darabi S, Torabzadeh P. Biologic effects of Aloe Vera extract on Balb/C Mice embryos. *J Zanzan Univ Med Sci*. 2016; 24: 90-8.

19- Taheri Sh, Sohrabi D. Teratogenic effects sodium benzoate on rat embryos. *J Zanzan Univ Med Sci*. 2002; 10: 1-4.

Archive of SID

The Biological Effects of *Ephedra major* Extract on the Quantitative Development of Balb/C Mouse Embryos during the Third to Sixth Days of Pregnancy

Saffari S¹, Torabzadeh P¹, Karimi A¹

¹Dept. of Biology, Islamic Azad University, Karaj Branch, karaj, Iran.

Corresponding Author: Torabzadeh P, Dept. of Biology, Islamic Azad University, Karaj Branch, karaj, Iran

E-mail: p.torabzadeh@gmail.com

Received: 15 May 2016 **Accepted:** 18 Jul 2016

Background and Objective: The beneficial effects of Ephedra Major in treating hypertension, common cold and muscle weakness have been reported. As there are no previous studies that assess its effects during pregnancy, we aimed to assess the biological effects of Ephedra Major extract on the quantitative development of Balb/C mouse embryos during the third to sixth days of pregnancy

Materials and Methods: In this study, 50 female Balb/C mice were randomly divided into 6 equal groups consisting of a control group (no injection), a sham group (injection of saline) and 4 experimental groups. The in vivo LD50 was determined as 3086 mg/kg and the injection doses were chosen at 300 and 500 mg/kg. Injection was done on the third to sixth days by enema. Then the mice were dissected on the 15th day of pregnancy. The experiment was performed twice. Data were analyzed by Duncan test in SPSS21. $P < 0/001$ was considered statistical significance.

Results: All embryos were atrophied in the group receiving 500 mg/kg Ephedra Major. We observed reduced myometrial thickness and disruption in the natural order of the endometrial layer. In the group receiving 300mg/kg, a significant decrease ($P < 0/001$) in the Crown–Rump Length (CR), embryo weight and placental weight was noted compared with other groups.

Conclusion: According to our observations, it seems that using this herb during pregnancy is hazardous. In addition to abortion, it may have a negative effect on embryonic development.

Keywords: *Ephedra Major, Embryonic development, Embryonic weight, Placental weight, Mouse Embryo*