اثر عصاره الکلی میوه عروسک‌پشت‌پرده بر رشد و نمو جفت در موش صحرایی حامله نژاد ویستار

مهناز نسیمی*[۱]، میترا حیدری نصرآبادی[۲]، عبدالحسین شیروی[۳]

چکیده

در این تحقیق اثرات ناهنجاری‌زای عصاره الکلی میوه عروسک‌پشت‌پرده روی رشد و نمو جفت در روز ٤ و ٦ بارداری در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

۳۰ سر موش ماده رت به طور تصادفی به ٦ گروه تقسیم شدند گروه کنترل، گروه تجربی ۱و۲ که هر یک در روزهای ٤و٦ بارداری دوزهای ۸ و۱۰ گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان از عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده را دریافت می‌کردند و گروه تجربی ۳ که در روز ٦ بارداری دوز ۱۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان از عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده را دریافت کردند. تمام جفت‌ها از رحم در روز ۱۵ بارداری خارج گردیدند و از نظر ریخت‌شناختی و بافت-شناختی بررسی شدند.

تجزیه و تحلیل به دست آمده نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده در روزهای ٤و٦ بارداری به موش حامله باعث کاهش معنی‌دار قطر، وزن و حجم جفت‌های گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل گردیده است. همچنین بررسی‌های ریخت‌شناختی نشان داد که هاله خون در درصدی از جفت‌های گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه کنترل وجود داشته است. به علاوه بررسی‌های بافتی جفت‌های گروه‌های تجربی، افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های هوف بوئر را در مقایسه با گروه کنترل نشان می-دهد.

عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده به واسطه جلوگیری از تقسیم و تمایز سلولی و کاهش عملکرد بعضی از آنزیم‌ها و هورمون‌ها احتمالا می‌تواند بر رشد کمی جفت‌ها و تمایز بعضی از سلول‌ها تاثیر 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 می-باشد. بنابراین به زنان باردار توصیه می‌شود تا تکمیل شدن تحقیقات در مورد این گیاه دارویی در زمان بارداری از این گیاه استفاده ننمایند.

کلمات کلیدی: عصاره الکلی، عروسک پشت پرده(گیاه)، جفت(حیوان)،سلول‌های هوف‌بوئر، بارداری، موش صحرایی، ناهنجاری‌زایی.

مقدمه

در عصر حاضر با توجه به اثرات درمانی و تاثیرات قابل توجه گیاهان دارویی نسبت به داروهای شیمیایی، بررسی اثر این گیاهان در دستور کار محققین قرار گرفته است. گیاه عروسک پشت پرده به عنوان یک گیاه دارویی در درمان محدوده وسیعی از بیماری‌ها شامل مشکلات ادراری، سنگ کلیه و مثانه، تب،التهاب، یبوست، آرتریت و روماتیسم به کار گرفته می‌شود. همچنین در طب سنتی به عنوان داروی سقط کننده جنین و ضد بارداری شناخته شده است[۲۳و۲].

در سال ۱۹۸٦ برای اولین بار توسط Dornberger به خواص ضد توموری گیاه *Physalis angulata* پی بردند[۷]. در ایران بررسی‌های انجام شده توسط دکتر وصال

*- نویسنده مسئول مکاتبات(nasimi_m@yahoo.com)

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی علوم جانوری گرایش تکوینی

۲- استادیارزیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند

۳- استادیار زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

و همکارانش نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره آبی میوه عروسک پشت پرده به موش‌های صحرایی ماده ۱۰۰ درصد Diestrus ایجاد و از تعداد نوزادان متولد شده و سطح پروژسترون پلاسما کاسته است و همچنین فعالیت آنزیم کراتین کیناز BB۱ رحم(پروتئین القاکننده استروژن) نیز مهار وابسته به زمان را نشان می‌دهد[۲۱]. همچنین در سال ۱۹۹۶- ۱۹۹۵توسط دکتر وصال و همکارانش اثر آنتاگونیستی استرادیول عصاره آبی عروسک پشت پرده روی مغز مطرح شد و نشان داده شد که عصاره منجر به مهار آزادسازی هورمون گنادوتروفین هیپوتالاموس و آزاد شدن هورمون لوتئینی کننده هیپوفیز با کاهش فعالیت گلوکز۶ فسفات دهیدروژناز غده هیپوفیز و هیپوتالاموس گردیده است[۲۰و۱۷]. در سال ۱۹۹٤ اثرات بیولوژیک عصاره آبی عروسک پشت پرده بر روی موش‌های حامله در روزهای مختلف توسط دکتر پریور، تراب‌زاده و رئیس‌دانا مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که عصاره آبی گیاه می‌تواند بر سیستم عصبی مرکزی و سقط جنین و نیز تغییر شکل اندام-های حرکتی تاثیرگذار باشد[۱].

در سال ۱۹۹۲توسط Chiang و همکارانش اثرات مهاری فیزالین B,F روی چند سلول سرطان خون انسان در محیط آزمایشگاه گزارش داده شد [٦].

در سال ۲۰۰٦ در محیط زنده و آزمایشگاه فعالیت ضد توموری فیزالین B,D گیاه *Physalis angulata* توسط Ferreira و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که هر دو ترکیب فعالیت سمیت ضد سلولی قابل توجهی را علیه چند دودمان سلول سرطانی نشان داده‌اند[۸].

در سال ۲۰۰۷ اثرات عصاره الکلی عروسک پشت پرده بر ناباروری موش صحرایی ماده توسط منتظری و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که عصاره بر بارداری و تخمک‌گذاری تاثیر منفی می‌گذارد[۱۱].

گونه *lycium* از جنس فیزالیس شامل ترکیباتی از جمله زاگزانتین دی‌پالمیتات (ایزومراز لوتئینی و مشتقی از بتا کاروتن) است و به عنوان یک ترکیب فعال اصلی در گیاه، لکه زرد شبکیه را از انحطاط حفظ می‌نماید[١٤].

به علاوه گیاه شامل بعضی ترکیبات استروئیدی است که فیزالین نامیده می‌شوند. اثرات ضد توموری فیزالین‌ها به ویژه فیزالین F در محیط آزمایشگاه بر چند دودمان سلول سرطان خون انسان و ٤دودمان سلول سرطانی انسان HA22T(هپاتوما)، هیلا، KB(نازوفارنکس)، Colon-205(کولون)، Calu-1(ریه)و سه دودمان سلول سرطانی حیوانی H1477(ملانوما)، Hep-2(حنجره‌ای) و B401 (گلیوما) گزارش شده است. همچنین، تاثیر فیزالین F در محیط زنده بر سرطان خون لنفوسیت P388 [٥ و٦]و نیز فعالیت ضد توموری فیزالین B,D در محیط زنده و آزمایشگاه علیه چند دودمان سلول سرطانی گزارش شده است[۸]. برای گلیکوآلکالوئیدهای موجود در این گیاه اثرات ضد انگلی گزارش شده است[۱۳]. از ویتافیزالین B، ویتافیزالین C و فیزالین B این گیاه در درمان اختلالات طحال و به عنوان داروی مدر و مسهل استفاده می‌شود[۹]. در واقع شاید خواص ضد استروژنی عصاره اتانولی ناشی از وجود گلیکوزید استروئید گیاه عروسک پشت پرده باشد [١٦]. آلکالوئیدهای موجود در گیاه از طریق مهار آنزیم توپوایزومراز II در فعالیت ضد توموری نقش دارند[۱۳و۳]. همچنین فیزالین‌ها از خود فعالیت‌های ضد تب نشان می‌دهند[٥ و٦]. همین‌طور اثر مهاری گلیکوآلکالوئید بعضی از *Solanum* ها روی رشد تریپانوزوم کروزی در محیط کشت گزارش شده است[٤]. بنابراین، با توجه به خواص ذکر شده برای این گیاه مقرر گردید که در تحقیق حاضر اثرات تراتوژنیک این داروی گیاهی بر جنین و جفت مادران باردار بررسی شود.

مواد و روش کار

حیوانات: در این تحقیق ۳۰ سر موش رت ماده نژاد ویستار به وزن ۱۰±۲۰۰ گرم از موسسه سرم و واکسن سازی رازی

1- کراتین کیناز آنزیمی است که از دو زیر واحدB اختصاصی برای بافت مغز وM مخصوص بافت عضلانی تشکیل شده ترکیب این زیر واحدها سه ایزوآنزیم ایجاد می‌کند مانند CK-BB(کراتین کیناز BB)

کرج تهیه گردید. پس از انتقال به محل انجام آزمایش ۲۰-۱۵روز 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 ٦ گروه ۵ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل غذای معمولی دریافت کردند. گروه تجربی ۱ که در روز٦ و٤ بارداری غلظت ۸g/Kg عصاره الکلی و گروه تجربی۲ که در روز ٦ و٤ بارداری غلظت ۱۰g/Kgعصاره الکلی و گروه تجربی ۳ که در روز ٦ بارداری غلظت ۱۲g/kgعصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده را (به صورت تزریق داخل صفاقی و تک دوز با احتساب درصد رطوبت و وزن بدن حیوان) علاوه بر غذای معمولی دریافت کردند. حیوانات ماده 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 بودن تست، حیوان ماده از سایر حیوانات نر و ماده جدا گشته و آن روز، روز صفر حاملگی حیوان در نظر گرفته شد.

تهیه عصاره الکلی: ۱۹۵۰ گرم پودر میوه گیاه عروسک پشت پرده به۷٦۰۰ میلی‌لیتر اتانول۸۰٪ اضافه شد. هر ۱۲ ساعت یک‌بار محلول توسط شیکر تکان داده می‌شد. محلول به مدت ۷۲ ساعت در بشری که با سلفون کاملا پوشانده شده بود در دمای اتاق قرار داده شد و سپس با کاغذ صافی وات من شماره۱ در قیف بوخنر با کمک پمپ خلا صاف شد و در دستگاه روتاری با دور چرخش٦۰ و در حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد محلول صاف شده تغلیظ گردید تاسرانجام حجم نهایی به ۱۲۷/۵ میلی لیتر رسید, وزن عصاره ۱۵۱/۷۵۱ گرم و درصد رطوبت عصاره ۲۵ درصد محاسبه شد.

اندازه‌گیری پارامترهای جفت: در روز ۱۵ بارداری، موش‌های ماده حامله توسط کلروفرم بیهوش و جفت‌ها از رحم خارج شدند و پس از اندازه‌گیری قطر با کولیس، حجم با لوله آزمایش مدرج و وزن جفت‌ها توسط ترازوی دیجیتال با دقت۰/۰۰۱ گرم، جفت‌ها با استریومیکروسکوپ تحقیقاتی بررسی شدند.

مطالعات بافت‌شناسی: نمونه‌ها پس از فیکس شدن در فیکساتیو بوئن به مدت ٢٤ ساعت وآب‌گیری 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 آزمون آماری One-Way-ANOVA و تست LSD با استفاده از نرم‌افزار16.0 SPSS و سطح معنی‌دار۰/۰۵ ≥p مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت(اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها به صورت ستاره نشان داده شد.

[۰/۰۵≥p (*)و۰/۰۱≥p (**)و۰/۰۰۱≥p (***)].

میانگین و انحراف معیار به صورت($\bar{X}$±SEM) بیان گردید.

نتایج

هدف این تحقیق بررسی اثرات تراتوژنیک عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده با دوزهای متفاوت ۸ و۱۰و۱۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان بر تغییرات مورفولوژیکی جفت در موش صحرایی بود. فاکتورهایی که در این رابطه مورد بررسی قرار گرفتند شامل اندازه وزن، حجم و قطر جفت‌ها بود. نتایج نشان داد:

۱- نتایج روز ٤ بارداری نشان می‌دهد که تمامی ٦۵ جفت گروه کنترل سالم بودند ولی در رحم‌های گروه تجربی یک، از ۵٦ جفت، ۵۱ جفت طبیعی (۹۱/۰۷٪) و۵ جفت هاله خون(۸/۹۲٪)را نشان دادند. از ۵٦ جفت گروه تجربی دو، ۵۰ جفت طبیعی (۸۹/۲۸٪) و ٦ جفت هاله خون(۱۵/۷۱٪) را نشان دادند(شکل ۱).

۲- نتایج روز ٦ بارداری نشان می‌دهد که تمامی٦۵ جفت موش‌های گروه کنترل سالم بودند ولی در رحم موش‌های گروه تجربی۱، از ۵۳ جفت، ٤۷ جفت طبیعی بودند(۸۸/٦۷٪) و٦ جفت هاله خون (۱۱/۳۲٪) را نشان دادند. از ٤۹ جفت

گروه تجربی۲، ٤۲ جفت طبیعی بودنـد(۸۵/۷۱٪) و ۷ جفـت هاله خـون (۱٤/۲۸٪) را نـشان دادنـد و از ٤۷ جفـت گـروه تجربی۳، ۳٦ جفت طبیعی بودنـد(۷٦/۵۹٪) و ۱۱جفـت هالـه خون(۲۳/٤۰٪) را نشان دادند(شکل۲).

۳-. نتایج به دسـت آمـده از روز ٤ بـارداری در مـورد حجـم جفت‌ها نشان می‌دهد که در اندازه حجم جفت‌ها بـین گـروه تجربی ۱در روز ٤ نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری به وجود نیامده است اما گروه تجربی ۲ در روز٤ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار در سـطح$p\leq$۰/۰۱ را نـشان داده اسـت (جدول۱). و نتایج به دست آمده از اندازه قطر جفت‌ها نـشان می‌دهد که در اندازه قطر جفت‌های گروه تجربی ۱در مقایـسه با گروه کنترل اختلاف معنـی‌دار بـه وجـود نیامـده امـا گـروه تجربی ۲ کـاهش معنـی‌دار در سـطح$p\leq$۰/۰۱ را در روز ٤ در مقایسه با گروه کنترل نشان داده اسـت (جـدول۱). نتـایج بـه دست آمده از بررسی اندازه وزن جفت‌ها نشان می‌دهد که در اندازه وزن جفت‌ها بین گروه تجربی۲ و گروه کنتـرل در روز ٤ بارداری کاهش معنی‌داری در سطح$p\leq$۰/۰۵ به وجود آمـده است اما گروه تجربی۱ در مقایـسه بـا گـروه کنتـرل اخـتلاف معنی‌دار ی را نشان نداد(جدول۱).

٤- نتایج به دست آمده از روز ٦ بارداری نشان می‌دهد که در اندازه حجم جفت‌ها بین گروه تجربـی ۱ در روز٦ نـسبت بـه گروه کنترل تفاوت معنی‌دار به وجود نیامده اسـت امـا گـروه تجربی ۲و۳ در روز٦ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار را در سطح$p\leq$۰/۰۰۱ نـشان داده اسـت (نمـودار۱). و نتـایج بـه دست آمده از اندازه قطر جفت‌ها نشان می‌دهد که قطر جفت-های گـروه تجربـی ۱ کـاهش معنـی‌دار در سـطح $p\leq$۰/۰۱ و گروه‌های تجربی ۲و۳ کاهش معنی‌دار در سـطح $p\leq$۰/۰۰۱ را در روز ٦ نسبت به گروه کنترل نـشان داده اسـت (نمـودار۲). نتایج به دست آمده از بررسی اندازه وزن جفت‌ها نشان مـی-دهد که در مقدار وزن جفت‌ها گروه تجربـی۲ در مقایـسه بـا گروه کنترل در روز ٦ کاهش معنـی‌داری در سـطح$p\leq$۰/۰۵ و گروه تجربی۳ در مقایـسه بـا گـروه کنتـرل در روز ٦ کـاهش معنی‌داری در سطح$p\leq$۰/۰۱ به وجود آمده است اما بین گروه تجربی ۱ با گروه کنتـرل تفـاوت معنـی‌دار بـه وجـود نیامـده است(نمودار۳).

۵- نتایج به دست آمده از بررسی‌های بـافتی جفـت از سـری تجربیات روز ٤ و ٦ بارداری نشان نشان دهنـده بـروز مـرگ برنامه‌ریزی شده برخی از سـلول‌هـای جفـت تجربـی اسـت. هسته در این سلول‌ها قطعه‌قطعه شده و بـی‌نظمـی در برخـی سلول‌ها مشاهده می‌شود(شکل۳).

٦- نتایج به دست آمده از بررسی‌های بـافتی جفـت از سـری تجربیات روز ٤ بارداری نشان داد کـه در تعـداد سـلول‌هـای هوف بوئر جفت‌های گروه‌های تجربی۱ در مقایـسه بـا گـروه کنترل افزایش معنی‌دار در سطح$p\leq$۰/۰۵ و گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار در سطح$p\leq$۰/۰۰۱ بـه وجود آمده است(نمودار٤).

۷- نتایج به دست آمده از بررسی‌های بـافتی جفـت از سـری تجربیات روز ٦ بارداری نشان داد که در تعـداد سـلول‌هـای هوف بوئرجفت‌های گروه‌هـای تجربـی۳و۲و۱ در مقایـسه بـا گروه کنترل افزایش معنـی‌دار در سـطح $p\leq$۰/۰۰۱ بـه وجـود آمده است(جدول ۲ و شکل٤).

جدول(۱) نتایج تحلیل آماری میانگین و انحراف معیار جفت‌ها در روز ۱۵ بارداری از سری تجربیات روز ٤ ($\bar{X}\pm SEM$)

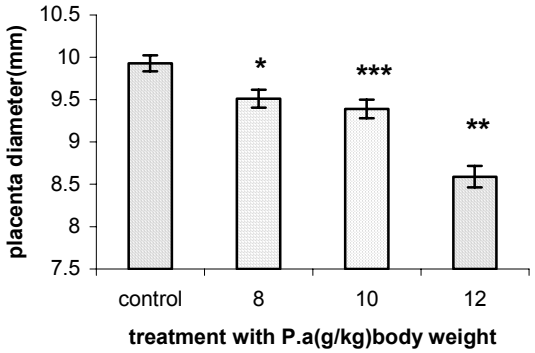
مشاهدات	قطر جفت(mm)	وزن جفت(gr)	حجم جفت(ml)
گروه تجربی۱	۹/۸۷±۰/۱۲۳	۰/۱۷٤±۰/۰۰۲	۰/۱۵۵±۰/۰۰۵
گروه تجربی۲	۹/٤۷±۰/۰۹۱	*۰/۱٦۵±۰/۰۰۳	**۰/۱٤۰±۰/۰۰۵
گروه کنترل	۹/۹۳±۰/۰۹۵	۰/۱۷۵±۰/۰۰۲	۰/۱٦۲±۰/۰۰٤
P	p≤۰/۰۵	p≤۰/۰۵	p≤۰/۰۵

$p\leq$۰/۰۵ (*)و$p\leq$۰/۰۱ (**)اختلاف از کنترل را نشان می‌دهد.

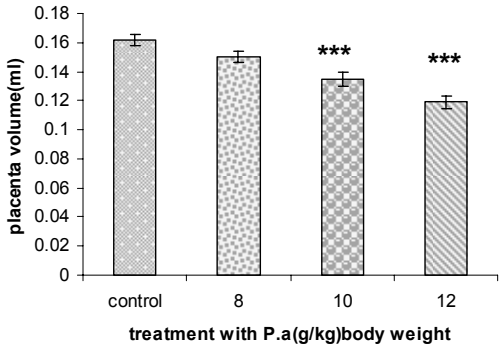
جدول (۲) نتایج تحلیل آماری میانگین و انحراف معیار فراوانی تعداد سلول‌های هوف بوئر جفت‌ها در روز ۱۵ بارداری از سری تجربیات روز ٦($\bar{X}\pm SEM$)

مشاهدات	فراوانی تعداد سلول‌های هوف بوئرجفت
گروه کنترل	۰/۵±۰/۱۰۱
گروه تجربی۱	***۲/۵۰±۰/۲۱۵
گروه تجربی۲	***۳/۷۲±۰/۱٤۸
گروه تجربی۳	***٤/۱۸±۰/۱٦٤
P	p≤۰/۰۵

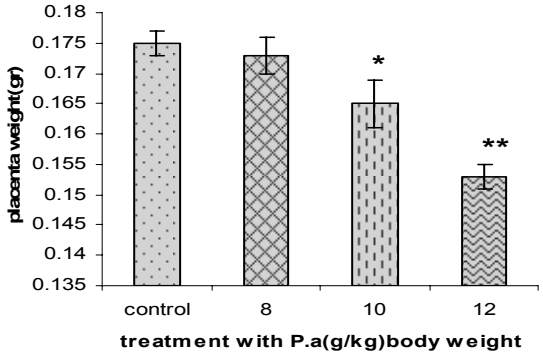
p≤۰/۰۰۱ (***) اختلاف از کنترل را نشان می‌دهد..



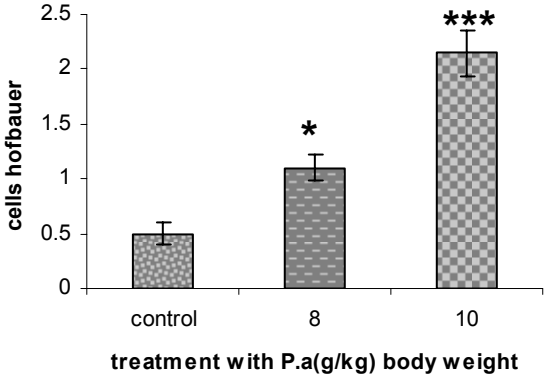
نمودار(۲) مقایسه میانگین و انحراف معیار قطر جفت (mm) در گروه‌های تجربی ۳و۲و۱ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده وگروه کنترل در روز ٦ بارداری. p≤۰/۰۵ (*)وp≤۰/۰۱ (**)وp≤۰/۰۰۱ (***)اختلاف از کنترل را نشان می‌دهد.



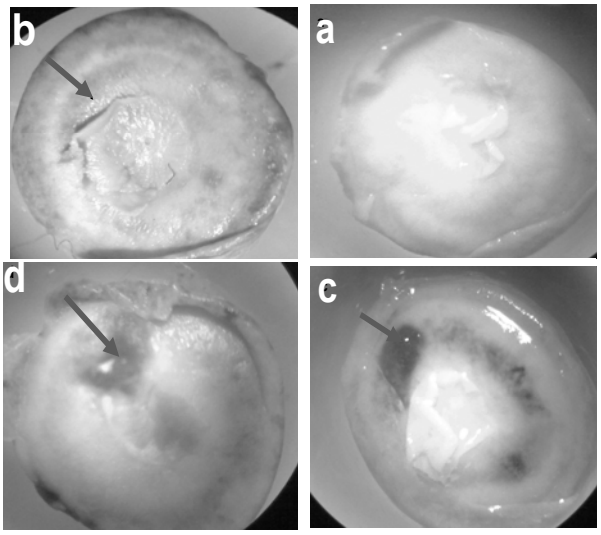
نمودار(۱) مقایسه میانگین و انحراف معیارحجم جفت(ml) در گروه-های تجربی ۳و۲و۱ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده و گروه کنترل در روز ٦ بارداری. p<۰/۰۰۱(***) اختلاف از کنترل را نشان می‌دهد.



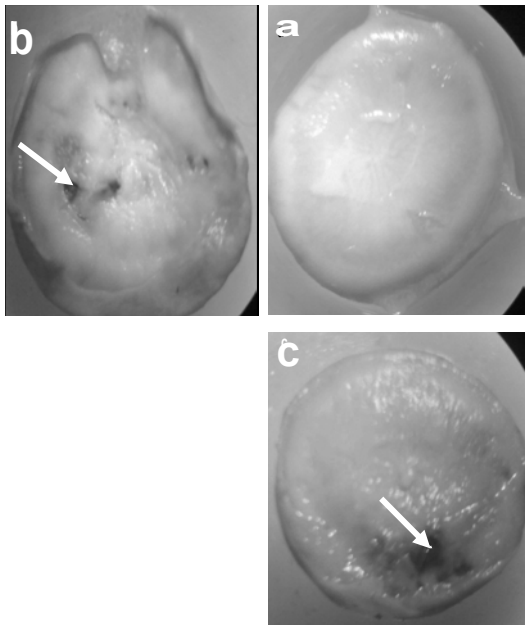
نمودار(۳) مقایسه میانگین و انحراف معیار وزن جفت (gr) در گروه-های تجربی ۳و۲و۱ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده وگروه کنترل در روز ٦ بارداری. p≤۰/۰۵ (*)وp≤۰/۰۱ (**)اختلاف از کنترل را نشان می‌دهد.



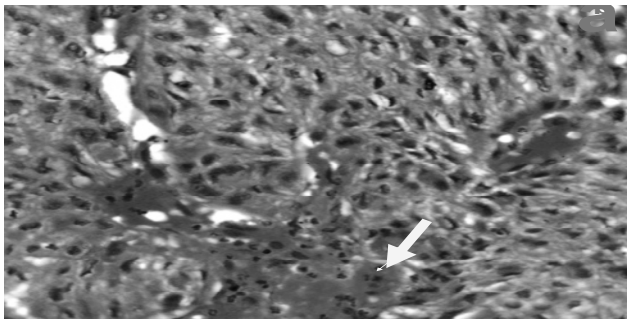
نمودار(٤) مقایسه میانگین و انحراف معیار فراوانی سلول‌های هوف بوئر در گروه‌های تجربی۱و۲ مورد تزریق با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده وگروه کنترل در روز ٤ بارداری. $p\leq$۰/۰۵ (*)و$p\leq$۰/۰۰۱ (***)اختلاف از کنترل را نشان می‌دهد.

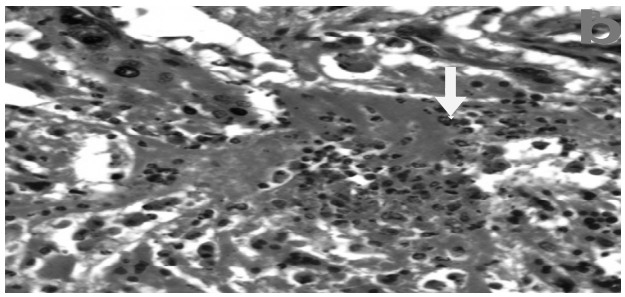


شکل(۲) استریوفتومیکروگرافی از جفت‌های گروه کنترل(a) گروه تجربی۱(b) گروه تجربی۲(c)گروه تجربی۳(d)در روز ۱۵ بارداری از نتایج تزریق روز ٦ بارداری به لخته خون(پیکان‌ها) در جفت‌های گروه تجربی ۱و۲و۳ توجه کنید(بزرگنمایی۳۰×).

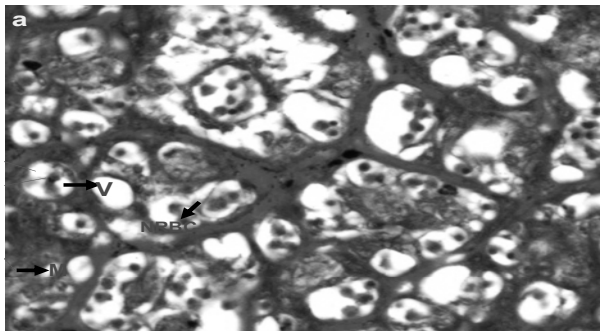


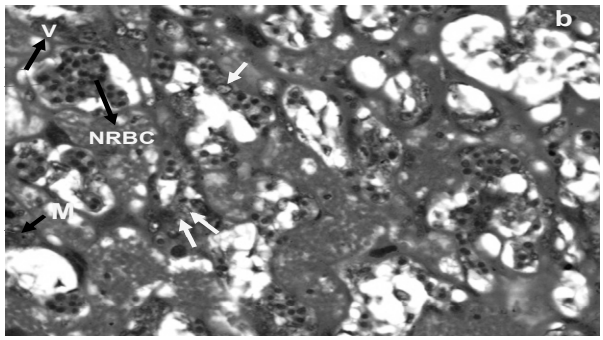
شکل(۱) استریوفتومیکروگرافی ازجفت‌های گروه کنترل(a) گروه تجربی۱(b) گروه تجربی۲(c) در روز ۱۵ بارداری از نتایج تزریق روز ٤ بارداری به لخته خون در جفت‌های تجربی ۲و۱ توجه کنید(بزرگنمایی۳۰×).





شکل(۳)فتومیکروگراف از مقطع طولی جفت گروه تجربی۲ (a) از نتایج روز ٤ و جفت تجربی ۳(b) از نتایج روز ٦ بارداری. نوک پیکان‌ها مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را در جفت‌ها نشان می‌دهد (بزرگنمایی٤۰۰×).





شکل(٤)فتومیکروگراف از مقطع طولی جفت گروه کنترل(a) و گروه تجربی۳(b) در روز ۱۵ بارداری نوک پیکان سلول هوف بوئر جفت را نشان می‌دهد (بزرگنمایی٤۰۰×).

M مزانشیم، V وزیکول‌های خونی، NRBC گلبول‌قرمز هسته‌دار.

بحث

بررسی‌های انجام شده نشان داد که تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده به مقدار ۸ و۱۰و۱۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان به موش‌های گروه تجربی ۱و۲و۳ در روز ٤و٦ بارداری توانسته بر رشد کمی جفت‌ها تاثیرگذار باشد.

در جفت‌ها مشخص شد که با افزایش دوز تزریقی به موش-های گروه تجربی در هر دو روز از وزن، حجم و قطر جفت-های گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاسته شده است اما در مقایسه بین روزهای تزریق معلوم گردید که روز ٦ نسبت به روز ٤ بیشترتوانسته منجر به کاهش وزن، حجم و قطر جفت‌های گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل شود. تزریق عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده در دوزهای ۱۰ و ۱۲ در هر دو روز باعث کاهش معنی‌دار در سطح $p<$ ۰/۰۵ گردیده است. برخی از بررسی‌ها نقش ضد توموری فیزالین‌ها روی مهار رشد سلول‌های سرطانی را از طریق توقف سلول‌ها در فاز G2/Mچرخه سلولی دانسته است در واقع تاثیر فیزالین‌ها از طریق کاهش بیان و فعالیت بعضی از سیکلین‌ها مثل CyclinA,B و کاهش فعالیت Cdc2 و افزایش فسفوریلاسیون Cdc2 انجام می‌گیرد(۲۲]. از آن جائی که در سلول نرمال تشکیل کمپلکس Cdc2 - Cyclin B برای انتقال سلول از فاز G2 به M و برای ورود سلول به میتوز لازم است[۲۲] بنابراین به نظر می‌رسد که عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده با وقفه در چرخه سلولی از تقسیم و رشد سلول‌ها جلوگیری به عمل آورده باشد. همچنین این نتایج موید آن است که در روز ٦ بارداری که ارتباط جنین با مادر از طریق جفت برقرار گشته تزریق عصاره الکلی میوه عروسک پشت پرده به مادر تاثیر بیشتری بر کاهش رشد کمی جفت داشته است اما روز ٤ که ارتباط به طور کامل برقرار نگردیده است تاثیر عصاره کمتر از روز ٦ دیده شده است.

نتایج به دست آمده از بررسی‌های بافتی جفت مواردی از مرگ‌برنامه‌ریزی شده سلول‌ها را در بافت جفت نشان داد.

بررسی‌های محققان نشان داده است که در سلول‌های سرطانی تیمار شده با فیزالین‌ها فعالیت کاسپاز ۳ افزایش یافته و فعالیت این پروتئاز آپوپتوزی منجر به تسهیمPARP[2](مارکر القا کننده آپوپتوزی) و شکستن کروموزوم زنجیره DNA و مهار فعالیت NF-KB[3] (فاکتور ضد آپوپتوزی) می‌گردد و سرانجام آپوپتوزیس را القا می‌کند[۲۲] سیتوکرومC آزاد شده از میتوکندری نقش کنترلی مهمی در فعالیت کاسپاز و آپوپتوزیس نشان می‌دهد. با برهم کنش‌های پروتئین‌های ویژه از خانواده BCL2 ، سیتوکرومC از فضای بین دو غشای میتوکندری وارد سیتوسل می‌گردد و با تشکیل کمپلکسی به نام آپوپتوزوم مسیر آبشاری کاسپازها(کاسپازها پروتئازهای اختصاصی هستند) فعال شده و سلول در مسیر مرگ برنامه-ریزی شده هدایت می‌شود. خانوادهBCL2 از نوع پروتئین-

[2] -PARP (Poly ADP Ribose Polymerase)
[3]- NF-KB(Nuclear factor-Kappa B)

های تراغشایی سینگل پس هستند که در غشای انـدامک‌هـای غشایی درون سلول (شبکه آندوپلاسمی و هـسته) قـرار مـی-گیرند و با هم بر هم کنش می‌کنند. از اعضای پیش آپوپتـوزی این خانواده Bak وBax هستند که افزایش بیان این دو سبب آزادسازی سیتوکروم C به سیتوسل و شروع آپوپتوزیس مـی-شـود. بـا دفـسفریلاسیون Bad و رهـا شـدن آن از پـروتئین سیتوسلی متصل بـه سـرین ۳-۳-۱٤ ایـن پـروتئین Bad بـه Bcl2 متصل شده و مانع از برهم‌کـنش آن بـا پـروتئین Bax مـی‌گـردد و بـا الیگـومریزه شـدن Bax نفوذپـذیری غـشاء میتوکندری افزایش یافته و سیتوکروم C از فضای بین دو غشا آزاد و وارد سیتوسل می‌گـردد سـپس بـا اتـصال بـه پـروتئین آداپتوری Apaf1 و کاسپاز آغازگر(کاسـپاز۹) باعـث تـشکیل کمپلکس آپوپتوزوم مـی‌گـردد و ایـن کمـپلکس نیـز کاسـپاز اجراگر(کاسپاز۳) را فعال کرده که با فعالیت این کاسپاز سلول به سمت مرگ هدایت می‌گردد. بنابراین با توجه به نتـایج بـه دست آمده و بررسی‌هـای انجـام شـده بـر روی سـلول‌هـای سرطانی به نظر می‌رسد که عصاره الکلی میوه عروسک پـشت پرده احتمالا توانسته است با القا آپوپتـوزیس از ادامـه تقـسیم سلول‌ها جلوگیری کرده باشد.

نتایج نشان داد که تزریق داخل صـفاقی عـصاره الکلـی میـوه عروسک پشت پرده به مقدار ۸ و۱۰و۱۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان به موش‌هـای گـروه تجربـی ۱و۲و۳ در روز ٤و٦ بارداری توانسته باعث خونریزی در درصـدی از جفـت‌هـای گروه تجربی گردد تمایز نیافتن سلول‌های مگاکاریوسـیت بـه پلاکت در جنین‌ها بواسطه تزریق عصاره الکلی به مادر باعـث کاهش پلاکت و در نتیجه خونریزی می‌گردد. این نتیجه شـاید دلیلی برای خونریزی‌های جفت باشد [۷ و۳].

نتایج بررسی‌های میکروسکوپی مقاطع سهمی- میانی جفـت-های گروه‌های تجربی در مقایسه با نمونـه‌هـای گـروه کنتـرل بیانگر افزایش سلول‌های هوف بوئر می‌باشد. فعالیـت سیـستم ایمنی بدن در افزایش سلول‌های هوف بـوئر حـاکی از نقـش مواد موثره در عصاره الکلی بر سیستم ایمنی بدن می‌باشـد در برخی از بررسی‌ها به نقش ضد التهابی و ضد تب عصاره گیاه *P.alkekengi* اشـاره شـده اسـت و مـشخص گردیـده کـه فیزالین‌ها به عنـوان مهمتـرین ترکیـب موجـود در عـصاره بـا کاهش نفوذ نوتروفیـل و مهـار تـشکیل سـیتوکینازهایی مثـل اینترلوکین٦ و اینترلوکین۱۲روی مهـار فعالیـت ماکروفاژهـا و مهار لنفوسیت اثرگذار بوده است و این فعالیـت‌هـا منجـر بـه کـاهش التهـاب مـی‌گردنـد[۱۲]. فیـزالین‌هـا مـشابه گلوکوکورتیکوئیدها عمل کرده و منجر به کاهش التهاب مـی-گردند. فیزالین‌ها نفوذپذیری مویرگ‌ها را احتمالا بـه صـورت یک اثر ثانویه‌ی کـاهش آزاد شـدن آنـزیم‌هـای پروتئولیتیـک کاهش می‌دهند. این امر از دفـع پلاسـما بـه داخـل بافـت‌هـا جلوگیری می‌کند. همچنین فیزالین‌هـا مهـاجرت گویچـه‌هـای سفید خون به داخل ناحیه‌ی ملتهب و فاگوسیتوز سـلول‌هـای آسیب دیده را کاهش می‌دهد. این اثر ناشی از کاهش تـشکیل پروستاگلندین‌ها و لوکوترین‌ها است. فیزالین‌ها سیستم ایمنـی را تضعیف کرده و موجب می‌شود که تولیدمثل لنفوسیت‌ها به طور بارزی کاهش یابد. به ویژه لنفوسیت T می‌شوند کـاهش مقدار لنفوسیت‌های T و آنتی‌بادی‌ها در بافت ملتهب به نوبـه خود واکنش‌هـای بـافتی را تخفیـف مـی‌دهـد. مهـار تـشکیل اینترلوکین٦ باعث کاهش تحریک ترشح آنتی‌بادی بـه وسـیله لنفوسیت B مـی‌گـردد و مهـار تـشکیل اینترلـوکین۱۲ باعـث کاهش عمل اینترفرون گاما می‌شود از آن جایی که اینترفـرون گاما خود سبب فعال کردن لنفوسیت B و ماکروفاژ مـی‌گـردد بنـابراین کـاهش فعالیـت آن منجـر بـه کـاهش فعـال‌سـازی لنفوسیتB و کاهش فعالیت ماکروفاژ می‌شود. فیزالین‌ها تـب را نیز پایین می‌آورند به طور عمده به این علت که آزاد شـدن اینترلوکین۱را از گویچه‌های سفید خون کاهش مـی‌دهنـد کـه یکی از محرک‌های اصلی سیستم کنترل دمـای هیپوتالاموسـی است. کاهش دما به نوبه خود میزان گـشادی رگـی را کـاهش می‌دهد.

منابع

۱- تراب‌زاده، پ.(۱۳۷۳). بررسی اثـرات بیولوژیـک عـصاره آبی گیاه عروسک‌پشت‌پرده بـر روی رشـد ونمـو جنـین‌هـای موش نژاد Balb/c در روزهای۳ و٤ و٥ و٦ حـاملگی. پایـان نامه کارشناسی ارشد(علوم جانوری)، واحد تهران شمال.

2-Amini.A, (2004),Dictionary of therapeutic plants.Tehran university,Tehran;157-159.

3-Basey.K;Brain.A;Mc Gaw;Wooley.jc.(1992), Phygrine,an alkaloid from physalis species phytochemistry,Val,31,No,12,PP,4173-4176.

4-Chataing B,Concepcion JI,Iobaton R,Usubillaga A.(1998),Inhibition of *Trypanosomea cruzi* growth in vitro by *Solanum* alkaloids: a comparison with ketoconazole.Planta Med;64:31-6.

5-Chiang.H;Jaw.S;Chen.CF;Kan.W.(1992), Antitumor agent,Physalin F from *Physalis angulata* Anticancer Research,12(3),PP.837-843.

6-Chiang.H;Jaw.S;Chen.P.(1992), Inhibitory effect of physalin B and physalin F on various human leukemia cells in vitro. Anticancer-Res.n(4)1155-62.

7-Dornberger.K.(1986).The Potential antineoplastic acting constituents of *Physalis alkekengi.*Var.Franchetii Mart.Pharmazie.41(4): 265-8.

8-Ferrira Magalhaes,H.I.,Veras,m.l.,Rocha Torres,M. Negreiros Nunes Alves,A.P.,Loiola pessoa,O.D.,Rocha silverira,E.,Costa-lotufo,L.V.,(…), Pessoa,C.In-vitro and in-vivo antitumour activity of physalins B and D from *Physalis angulata*.(2006),journal.of pharmacy and pharmacology,58(2),pp.235-241.

9-Glotter.E;Hiroson.I;Abraham.A;Sethi.P; Subramanian-SS.(1975),Steriodal constituents of *Physalis minima*(Solanaceae).J-Chem-soc-perkin-l,14:1370-4.

10-Lee.W;Lin.K;Chen.C;Chen.Z;HJ;Lai.Y.(1991) , .Induction of heat-shock response and alterations of protein phosphorylation by a novel topoisomeras II inhibitor. with angulations A, in 91 rat brain tumor cells.j.cell-physiol.146(1):66-76.

11-Montaserti A,Pourheydar M,Khazaei M, Ghorbani R.(2007),Anti-Fertility effects of *Physalis alkekengi* alcoholic extract in female rat.Iranian journal of reproductive medicine, Vol.5,no.1,winter PP 13-16.

12-Selthurman.V;Sulochana.N., (1988), The anti.inflammatory activity of *Physalis minima*. Fitoterapia.53/4(335-336).

13-Tamaya.T,Sato.S,Okada.H.(1986),Possible mechanism of steroid action of the plant herb extracts glycyrrhizn.glycyrrhetinic acid and paeoniflorin:inhibition by plant herb extracts of steroid protein binding in the rabbit.Amjobstet gynecol:155:1134-9.

14-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.

15- 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:Vol 29.No(4):175-179.

16-Vessal.M,Akmali.M,Bambaee-Row N.(1999), .Thin layer chromatographic detection of steroid and alkaloid glycosides in *Physalis alkekengi* fruits.Arch Iranian Med;2:28-30.

17-Vessal.M,Rasti.M,Kooshesh.F. (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.

18-Vessal.M,Mostafavi-pour.Z,Kooshesh.F. (1995),Age and sex dependence of effects of of an aqueous extract of *Physalis alkekengi* fruits on rat

hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase activity.comp Biochem physiol; 111B:675-8.

19-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.

20-Vessal.M,Yazdanian.M. (1995),comparison of the effects of an aqueous extract of *Physalis alkekengi* Fruits and/or various doses of17-beta-estradiol on rat estrus cycle,and uterine glucose-6-phosphate dehydrogenase activity.comp Biochem physiol 112c:229-36.

21-Vessal.M;Mehrani.H,Omrani.G.(1991), Effects of an aqueous extract of *Physalis alkekengi* on estrue cyclo reproduction and uterine creatine kinase BB-isozyme in rats.J.Ethnopharmacol 34(1):69-78.

22-Wen.T,Kuan.H,Hui.Y. and Jing.G.(2006), *Physalis angulata* Induced G2/M phase arrest in human breast cancer cells. Food and chemical toxicology,Issue7,Pages974-983.

23-Zargari.A. (2003).Medical plants.Tehran university,Tehran. 3595-359.