فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال هفتم، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۴

بررسی اثر عصاره آبی زرشک (*Berberis integerrima*) بر رشد بافت استخوانی جنین موش کوچک آزمایشگاهی‌نژاد Balb/c

سیدهمایون صدرایی[۱]، مهناز آذرنیا[۲]، زهره فتح آبادی[۲]، غلامرضا کاکا [*۱]، جواد رئوف سرشوری[۱]

[۱] مرکز علوم اعصاب، گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

[۲] دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

E-mail: gh_kaka@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۰۷

چکیده

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر عصاره میوه زرشک در روزهای حساس بارداری بر رشد و نمو جنین و شاخص‌های هیستومورفومتریک بافت استخوان جنین موش است. تعداد ۲۰ سر موش باردار سوری به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه شاهد هیچ تزریقی نداشتند. گروه شم آب مقطر و گروه‌های تجربی عصاره زرشک را در مقادیر ۴ میلی گرم بر کیلوگرم (تجربی ۴) و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (تجربی ۴۰) در روزهای ۷، ۸ و ۹ بارداری به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. موش‌های باردار در پایان روز ۱۹ بارداری کشته شده و جنین‌ها خارج و از نظر وجود ناهنجاری‌های ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند. طول سری-دمی جنین‌ها و قطر جفت آنها نیز اندازه‌گیری شد. پس از فیکس کردن و پردازش جنین‌ها، مقاطع ۵ میکرونی از ساق پای آنها تهیه و تحت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین قرار گرفته و بررسی شاخص‌های هیستومورفومتری بافت استخوان تیبیای جنین‌ها انجام شد.

کلیدواژه‌ها: جنین، استخوان، موش، عصاره زرشک

مقدمه

گیاهان دارویی مشابه داروهای شیمیایی ممکن است اثرات جانبی ناخواسته داشته و سبب آسیب‌های بافتی خصوصا در دوره بارداری روی جنین‌گر شوند. بررسی اثرات جانبی و سمی گیاهان دارویی با انجام آزمایشات تجربی روی حیوانات آزمایشگاهی کمک موثری در شناسایی و تشخیص اثرات مضر داروها بر سیستم‌های بیولوژیک و نیز مراحل رشد و نمو جنین خواهد کرد. گاهی مصرف بیش از حد داروهای گیاهی ممکن است نه‌تنها باعث درمان بیمار نشده بلکه ضایعات جبران‌ناپذیری نیز ایجاد کنند [10]. اغلب خانم‌های باردار با این ذهنیت که استفاده از گیاهان دارویی مشکل‌آفرین و مضر نیستند و عوارضی برای مادر و جنین ندارند، اقدام به خود درمانی با گیاهان دارویی

می‌کنند. از این رو لازم است، بررسی‌های مختلفی با مقادیر مصرفی متفاوت روی مدل‌های حیوانی انجام شود تا با شناخت اثرات سوء دارو در بافت‌های مختلف میزان مصرف دقیق و غیرسمی دارو مشخص شود [15].

گیاه زرشک با نام علمی (*Berberis integerrima*) در دسته گیاهان گلدار، نهاندانه، دولپه و جداگلبرگ قرار دارد و از راسته آلاله ((Ranals و تیره زرشکیان (Berberidacea) است [14]. از نظر محتوا ترکیبی حدود ٤ درصد مواد قندی، ٦٥ درصد اسیدمالیک و اسیدتارتاریک و مقداری صمغ و حاوی اسیدهای سیتریک و ویتامین c و مشتقات آنتوسیانین، رزین و تانن است. [1]. از جمله فواید دارویی زرشک می‌توان به خاصیت رفع تشنگی و عطش شدید به‌خصوص در مناطق گرمسیر کشور اشاره کرد [7]. همچنین از این گیاه در بهبود بیماری‌های کبدی و اسهال خونی آمیبی استفاده می‌شود [2]. از خواص دیگر آن اثرات آنتی اکسیدانی [17]، ضد انگلی، ضد التهابی و کاهنده قند [9]، کلسترول [11]، تری گلیسیرید و فشار خون[17] را می‌توان نام برد. بررسی فیتوشیمیایی نشان داده که ترکیبات گیاه زرشک شامل آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی وتری ترپنوئید است. در واقع خواص دارویی زرشک به جهت دارا بودن متابولیت‌های ثانویه‌ای چون بربرین، اکسیاکانتین، برمامین، پالماتین، ژات روزیرین است [22].

استفاده صحیح از موادغذایی می‌تواند در افراد ضامن سلامتی آنان باشد گرچه استفاده نادرست و بیش از حد موادغذایی و گیاهان داروئی حتی در بالغان نیز می‌تواند مخل سلامتی فرد شده یا اینکه در دوره بارداری ممکن است موجب اختلال در رشد و نمو و آسیب به جنین و بروز ناهنجاری شود [18]. تحقیقات بسیار محدودی در مورد اثر زرشک بر رشد و نمو جنین صورت گرفته، از جمله مطالعات صادقی فر و همکاران (۱۳۷۵) که نشان دادند که عصاره زرشک با عبور از جفت می‌تواند در رشد و تمایز بافت‌های جنینی تاثیر منفی بگذارد [14]. به‌نظر می‌رسد بررسی اثرات ناخواسته و توکسیک این گیاه به‌عنوان داروی گیاهی در دوره بارداری از اهمیت خاصی برخوردار بوده باشد لذا این مطالعه به منظور بررسی اثرات احتمالی مصرف عصاره این گیاه در روزهای حساس بارداری بر رشد و نمو جنین موش سوری و به‌ویژه بررسی هیستومورفومتریک بافت استخوانی آن به‌عنوان شاخص تراتوژنیک انجام شده است.

نتایج: در گروه‌های شاهد، شم و تجربی ٤ هیچ‌گونه ناهنجاری ظاهری و بافتی از نظر شاخص‌های تراتوژنیک دیده نشد، درحالی‌که در گروه تجربی ٤٠ ناهنجاری‌هایی نظیر میکروملیا، جنین و جفت آتروفی، اسپینابیفیدا، خونریزی زیر جلدی، جایگاه جفت جذب شده و جفت اضافی دیده شد. در مطالعه میانگین طول سری- دمی جنین‌ها، وزن و قطر جفت‌ها در گروه تجربی ٤٠ نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری مشاهده شد. میانگین وزن جنین‌ها در گروه تجربی ٤٠ نسبت به گروه شاهد کاهش داشت اما معنادار نبود. بررسی هیستومورفومتری استخوان تیبیای جنین‌های گروه‌های تجربی دوز ٤ میلی‌گرم و دوز ٤٠ میلی‌گرم افزایش غیرمعناداری در میانگین درصد حجم اشغال شده توسط پریکندریوم، ترابکولاها و حجم بافت همبندی وعروقی نسبت به گروه شواهد نشان داده. میانگین درصد حجم غضروف در گروه‌های تجربی ٤ و ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته گرچه معنادار نبود. همچنین اختلاف معناداری در میانگین حجم کل استخوان

درگروه‌های شم و تجربی ٤ و تجربی ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: تجویز ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره زرشک به موش باردار به‌عنوان محرک رشد استخوانی جنین‌ها عمل کرده و به میزان اندکی بر رشد جنین تاثیر مثبت داشته ولی تجویز ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره زرشک به موش باردار توانسته به اختلال رشد و نمو جنین‌ها از جمله استئوژنز آنها منجر گردد. به نظر می‌رسد که تاثیرپذیری جنین‌ها از عصاره زرشک وابسته به دوز این عصاره است هرچند که بررسی‌های بیشتری را می‌طلبد.

تهیه عصاره زرشک

ابتدا ۱۰۰ گرم زرشک با آب شهر ۲ تا ۳ بار شستشو داده شد. در مرحله بعد با ۱۰۰۰ سی‌سی آب مقطر در حال جوش ۱۰۰ گرم زرشک اضافه شد و به مدت ۲ ساعت مخلوط شد. محتویات داخل بشر را با قیف و کاغذ صافی صاف کرده و برای به‌دست آوردن عصاره، محلول صاف شده به مدت ۱۲ ساعت در دستگاه بن ماری قرار داده شد. بدین ترتیب از ۱۰۰ گرم زرشک، ۱۰ گرم عصاره به‌دست آمد.

مطالعه هیستومورفومتری بافت استخوان جنین‌ها

در این تحقیق شاخص‌های هیستومورفومتری استخوان تیبیای جنین‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. بدین ترتیب که جهت اندازه‌گیری‌های بافتی با بزرگنمایی‌های ×۱۰۰ **از** میکروسکپ Nikon مجهز به دوربین دیجیتال استفاده شد. بدین منظور از هر مقطع بافت استخوان تیبیا عکس گرفته شد و توسط نرم‌افزار Motic اندازه‌گیری سطوح پریکندر – پریوست، ترابکولا، غضروف و بافت همبندی عروقی برحسب میکرومترمربع انجام گرفت. سپس با استفاده از روش Gaytan و همکاران (۱۹۸۷) حجم پریکندر – پریوست، ترابکولا، غضروف و بافت همبندی عروقی بر حسب میکرومترمکعب توسط فرمول V=ANT (V حجم بافت، A مساحت هر مقطع، N تعداد مقاطع در هر ناحیه و T ضخامت مقطع) در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری و ثبت شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

موش‌های کوچک آزمایشگاهی ماده بالغ ازنژاد c /Balb با میانگین وزن ۷±۳۳ گرم در شرایط استاندارد (۱۲ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی (در دمای۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد و آب و غذای کافی نگهداری شدند. پس از قرار گرفتن شبانه سه موش ماده با یک موش نر در یک قفس و مشاهده پلاک واژینال و مشاهده اسپرم در واژینال اسمیر در صبح روز بعد، روز صفر بارداری تعیین شد. تعداد ۲۰ سر موش باردار به چهار گروه مساوی و برای هر گروه تعداد ۵ سر موش تقسیم شدند. گروه شاهد هیچ تزریقی نداشتند. گروه شم آب مقطر و گروه‌های تجربی عصاره زرشک را در مقادیر ٤ میلی گرم بر کیلوگرم (گروه تجربی ٤) و٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه تجربی ٤٠) در روزهای ۷، ۸ و ۹ بارداری به‌صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

آماده‌سازی بافتی

موش‌های باردار در پایان روز ۱۹ بارداری با استفاده از دوز بالای کلروفورم کشته شدند و بلافاصله با شکافتن جدار قدامی شکم، شاخ‌های رحمی را باز کرده و جنین‌ها به همراه جفتشان خارج شدند. تمامی

جنین‌ها از نظر وجود ناهنجاری‌های ظاهری با استفاده از استریو میکروسکپ مورد بررسی قرار گرفتند. طول سری- دمی جنین‌ها و اقطار کوچک و بزرگ جفت آنها نیز با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری شدند. تعداد پنج جنین از هر موش باردار به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. پس از فیکس کردن و پردازش جنین‌ها، اندام تحتانی جنین‌ها حد فاصل بالاتر از زانو و پایین‌تر از مفصل مچ پا را قطع نموده و پس از قالب‌گیری با پارافین، مقاطع عرضی به ضخامت ۵ میکرون به‌صورت برش‌گیری سریال از بلوک‌ها تهیه شد و مقاطع به نسبت ۱ به ٤ جمع‌آوری و با هماتوکسیلین- ائوزین ((H&E رنگ آمیزی شدند.

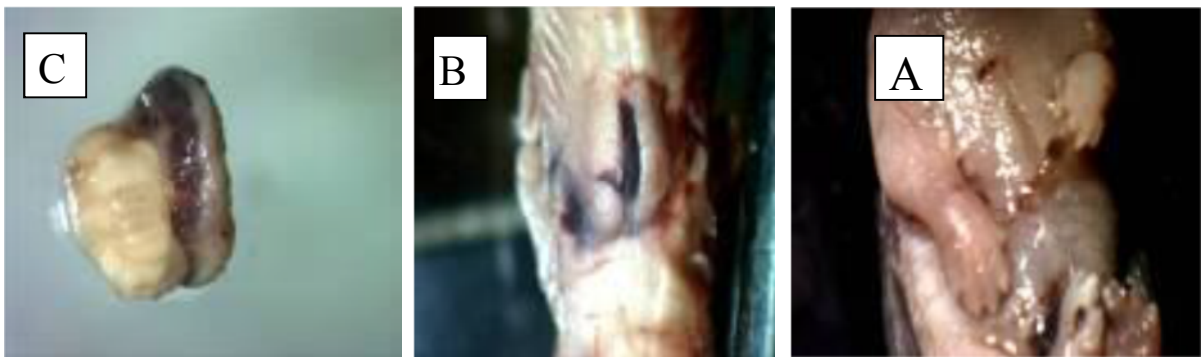
تجزیه وتحلیل آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه وآزمون توکی در نرم‌افزار Spss 13 مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات به‌صورت Mean±SEM ارائه شده و تفاوت میانگین‌ها در سطح P<0. 05 معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

مورفولوژی جنین و جفت‌ها

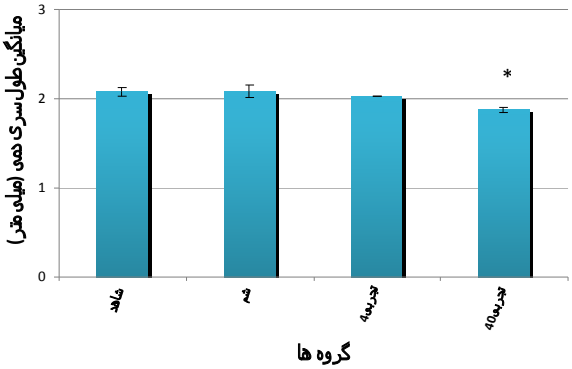
بررسی‌های مورفولوژی جنین‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که هیچ‌گونه ناهنجاری ظاهری و مورفولوژیک در جنین‌های گروه‌های شاهد، شم و تجربی ٤ ملاحظه نشد. تنها در گروه تجربی ٤٠ ناهجاری‌های ظاهری جنین‌هابه ترتیب ۱/۹ درصد میکروملیا، ۸ /۸ درصد اسپینابیفیدا، ٦/٦ درصد جنین و جفت آتروفی و ٤٤/٤ درصد خونریزی زیر جلدی مشاهده شد. (تصویر ۱).



تصویر ۱- (شکل A) ناهنجاری میکروملیا در گروه تجربی دوز ٤٠ میلی گرم، (شکل B) اسپینابیفیدا در گروه تجربی ٤٠
(شکل C) جنین و جفت آتروفیه در گروه تجربی ٤٠

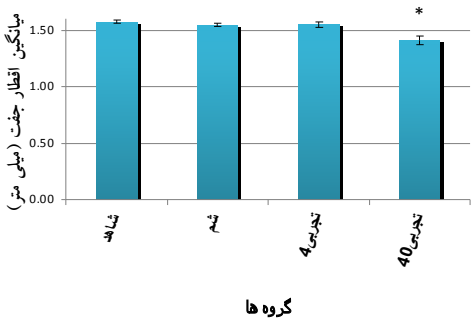
طول سری- دمی (Crown-Rump) جنین‌ها و اقطار جفت‌ها

میانگین طول سری-دمی جنین‌ها و نیز میانگین اقطار بزرگ و کوچک جفت‌ها در گروه تجربی ٤ در مقایسه با گروه شاهد و شم تغییر معناداری نداشت. در حالی‌که بررسی میانگین طول سری - دمی جنین‌ها (نمودار ۱) و میانگین وزن جنین‌ها در گروه‌های تجربی ٤ و ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد کاهش غیرمعنادار را نشان داد. در حالی‌که میانگین قطر جفت‌ها (نمودار ۲) در گروه تجربی٤٠، نسبت به گروه شاهد کاهش معناداری داشته است.



نمودار شماره ۱ - میانگین طول سری-دمی در جنین‌های ۱۹ روزه را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. میانگین طول سری- دمی در جنین‌های ۱۹ روزه در گروه تجربی ۴۰ در مقایسه با گروه شاهد کاهش معناداری داشته است ($p<0.05$).

علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار با گروه شاهد است. ($p<0.05$).

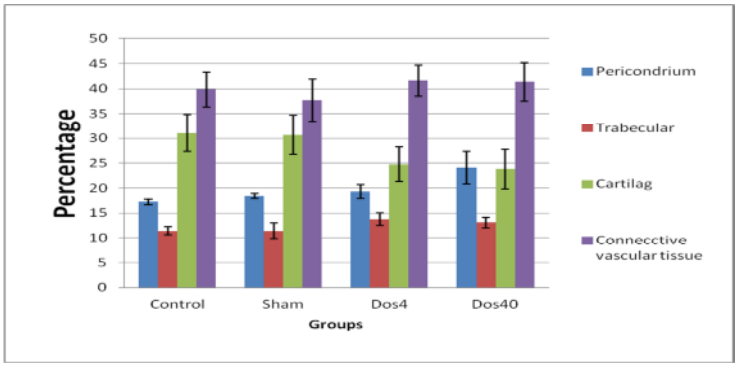


نمودار۲ - میانگین قطر جفت در جنین‌های ۱۹ روزه در گروه‌های شاهد، شم و در گروه تجربی٤ (دوز 4 mg/kg) و در گروه تجربی ٤٠ (دوز 40 mg/kg) را نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌شود، میانگین قطر جفت در جنین‌های ۱۹ روزه در گروه تجربی ٤٠ کاهش معناداری ($p<0.05$) را در مقایسه با گروه شاهد نشان می‌دهد.

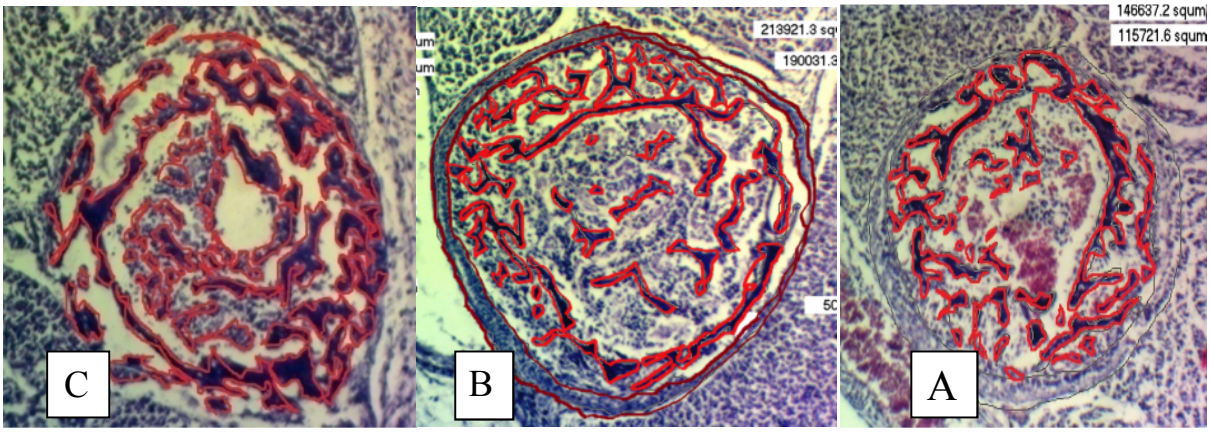
علامت * نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار با گروه شاهد می‌باشد ($p<0.05$).

نتایج هیستومورفومتری

بررسی هیستومورفومتری استخوان تیبیای جنین‌ها در گروه‌های مختلف نشان داد که میانگین حجم کل استخوان تیبیا در گروه شم در مقایسه با گروه شاهد مختصری کاهش یافته که این کاهش معنادار نبود. یافته‌های مورفومتری همچنین نشان داد که میانگین درصد حجم پریکندریوم/ پریوست در گروه‌های شم، تجربی ٤ و ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد افزایش غیرمعنادار داشته است. به همین ترتیب میانگین درصد حجم ترابکولا در گروه تجربی ٤ و ٤٠ نسبت به گروه شاهد افزایش غیرمعنادار نشان داد. علاوه بر آن میانگین درصد حجم غضروف در گروه تجربی ٤ و ٤٠در مقایسه با گروه شاهد کاهش غیرمعنادار داشت. از سوی دیگر میانگین درصد حجم بافت همبندی عروقی (CVT) در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد نیز افزایش یافته اما این افزایش معنادار نبود (نمودار ۳). همچنین نتایج نشان داد که هیچ‌گونه اختلاف معناداری در میانگین حجم کل استخوان تیبیا در گروه تجربی ٤ و ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد وجود نداشت (تصویر ۳).



نمودار ۳- مقایسه میانگین درصد حجم Perichondrium، Trabecula، Cartilage و Connective vascular tissue (CVT) در جنین‌های ۱۹روزه موش را در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. میانگین درصد حجم Perichondrium، Trabecula، Cartilage و CVT بین گروه‌های مورد آزمایش اختلاف معنادار نداشت (بزرگنمایی ×۱۰۰).



تصویر ۳- تصاویر میکروسکوپی از مقاطع عرضی نواحی مختلف تیبیای جنین موش ۱۹ روزه در گروه‌های مختلف: A) گروه شاهد، B) گروه تجربی ٤ (دوز 4 mg/kg)، C) گروه تجربی ٤٠ (دوز 40 mg/kg).

افزایش میزان ترابکولاها را در گروه تجربی ٤ و ٤٠ نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهد گرچه این افزایش معنادار نبود (رنگ آمیزی H&E و بزرگنمایی× ١٠٠).

بحث

بررسی اثرات جانبی و سمی گیاهان دارویی کمک موثری در شناسایی اثرات مضر دارو بر سیستم‌های بیولوژیک و نیز مراحل رشد و نمو جنین خواهد کرد. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که جنین‌ها در گروه شاهد و شم ناهنجاری ظاهری نشان ندادند. همچنین استفاده از عصاره زرشک به میزان ٤ میلی گرم در هر کیلوگرم از وزن بدن اثرات تراتوژنیکی بر مورفولوژی جنین‌های موش به همراه نداشت. درحالی‌که در گروهی که مقدار ٤٠ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از عصاره را دریافت کرده بودند، اثرات تراتوژنیک ظاهری روی جنین مشاهده شد. نتایج مطالعه صادقی فر و همکاران (١٣٧٥) در بررسی اثرات بیولوژیک عصاره‌های آبی و الکلی میوه زرشک روی رشد و نمو جنین موش سوری، نشان داد که طول سری-دمی جنین‌هایی که عصاره آبی زرشک را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است [13]. در مطالعه حاضر نیز طول سری- دمی در جنین‌های گروه تجربی ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنادار داشته که با نتایج صادقی‌فر هم خوانی دارد. مشاهده جنین و جفت آتروفی در گروه تجربی ٤٠ احتمالا به‌دلیل وجود ترکیب دی هیدروکسیدپالمیتینیوم (DPH) موجود در زرشک است که خاصیت ضد استروژنی داشته و مصرف آن باعث آتروفی شدن آندومتر شده است، بنابراین این تغییرات باعث عدم تغذیه کامل جنین و اختلال در رشد و نمو آن و همچنین عدم خون‌رسانی کافی به جنین و جفت و نیز سبب کاهش رشد جنین می‌شود[4]. از آنجائی‌که زرشک یک ماده قاعده‌آور است که مصرف آن روی لایه‌های رحمی اثر گذاشته و باعث تخریب آندومتر می‌شود در واقع ترکیبات آلکالوئیدی نظیر بنزیل ایزوکینولین موجود در زرشک و پروتوبربرین وترکیبات غیرآلکالوئیدی آن مثل اسیدآسکوربیک محرک رحمی هستند با توجه به این موارد می‌توان احتمال داد که زرشک روی سیستم هورمونی بدن نیز ممکن است تاثیر بگذارد و از طریق هورمونی باعث اختلال در رشد و نمو جنین و ادامه بارداری شود و باعث شود که جنین سقط شود [3-21]. همچنین کاهش قد سری-دمی می‌تواند بیانگر عکس‌العمل سلول‌ها نسبت به کاهش اکسیژن نیز

باشد، زیرا بربرین سبب مهار دریافت اکسیژن توسط سلول می‌شود و مصرف اکسیژن را کاهش می‌دهد که این کاهش میزان اکسیژن ممکن سبب تاخیر رشد و نموی جنین و بافت‌های آن شود [19.21] .

در این مطالعه جنین‌های آتروفی و جایگاه‌های جفت بدون حضور جنین در گروه تجربی ٤٠ حاکی از آتروفی و جذب شدن جنین‌ها شد که با نتایج صادقی‌فر هم‌خوانی دارد که می‌توان احتمال داد که ترکیب دی هیدروکسیدپالمیتینیوم (DPH) موجود در زرشک، خاصیت ضد استروژنی داشته و مصرف آن باعث آتروفی و چروکیده شدن آندومتر شده و این تغییرات باعث سوءتغذیه کامل جنین و اختلال در رشد و نمو آن شده است و همچنین عدم خون‌رسانی کافی به جنین و جفت نیز سبب کاهش رشد جنینی می‌شود [16]. بربرین موجود در زرشک موجب افزایش انقباض رحمی و مانع از ادامه رشد و نمو جنین و موجب سقط جنین می‌شود. بربرین موجب مهار دریافت اکسیژن توسط سلول‌ها و باعث مرگ سلولی می‌شود و توقف رشد و آتروفی شدن جنین را نتیجه می‌دهد. گرچه پاره‌ای از محققان عقب بودن رشد دوران جنین را با وزن جنین ارزیابی می‌کردند [20] ولی پایین بودن وزن جنین الزاما به معنای عقب افتادگی رشد و نمو آن تلقی نمی‌شود. پاره‌ای از محققان چنین نتیجه گرفته‌اند که جنین‌های گروه تجربی ممکن است وزن کمتری در مقایسه با گروه شاهد داشته باشند ولی علائم عقب ماندگی و تاخیر رشد استخوان نداشته باشند و عکس این مطلب نیز صادق است [12].

علاوه بر آن به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش وزن و کاهش طول سری–دمی در جنین‌هایی که به آنها مقدار ٤٠ mg/kg از عصاره آبی میوه زرشک تزریق شده بود نیز به خاطر کاهش عملکرد جفتی باشد به این‌صورت که توسط جفت نواحی تبادل بین مادر و جنین یعنی سطح پرزهای جفتی کاهش می‌یابد در نتیجه توانایی انتقال اکسیژن و موادغذایی از مادر به جنین کمتر می‌شود [23]. لازم به ذکر است که ظرفیت رشد وزنی تا حدود زیادی توسط جفت تعیین می‌شود و رشد جنین وابسته به وزن جفت است [8] جفت به‌عنوان اندامی که ارتباط خونی بین مادر و جنین را ایجاد می‌کند هر عاملی که باعث تغییر در این اندام شود، ممکن است پتانسیل ایجاد تغییر در جنین را نیز داشته باشد [6] هرچند که همیشه ارتباط مستقیم بین آسیب‌پذیری مادر و جنین وجود ندارد گرچه اندام‌ها و بافت‌های جنینی از آستانه آسیب‌پذیری پایین‌تری در مقایسه با ساختمان‌های مادری برخوردارند سموم و ترکیبات دارویی با دوز پایین می‌توانند باعث بروز آسیب در جنین‌ها شوند که در این میان نقش جفت بسیار با اهمیت است. اینکه نفوذپذیری سد خونی جفتی در برابر یک ترکیب سمی چقدر باشد می‌تواند تعیین کند که آستانه آسیب‌رسانی ماده تراتوژن در چه حدی بوده است. نفوذپذیری بالای سدخونی–جفتی در برابر یک تراتوژن سبب خواهد شد که آن ماده با مقداری به‌مراتب پایین‌تر از مقدار آسیب‌رسان برای مادر، بتواند در جنین ایجاد ناهنجاری نماید. اما اگر سد خونی– جفتی نفوذپذیری پایینی را در برابر یک ماده تراتوژن نشان دهد، آن ماده با مقدار پایین اثر آشکاری را بر مادر و جنین نشان نخواهد داد. اما بالا رفتن مقدار یا مسمومیت مزمن به آن ماده سبب تجمع بیش از حد آن در ساختمان‌های مادری و از جمله جفت‌شده و می‌تواند با آسیب رساندن و ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی آنها به‌طور ثانویه سبب آسیب دیدن ساختمان‌های جنینی شود [25].

تغییرات هیستومورفومتریک بافت استخوان در این تحقیق نشان داد که در جنین‌های گروه تجربی دوز ٤ و دوز ٤٠ افزایش غیرمعناداری در میانگین درصد

حجم اشغال شده توسط پریکوندریم، ترابکولاها و بافت همبندی وعروقی نسبت به گروه شاهد داشت. میانگین درصد حجم غضروف‌ها در گروه تجربی ٤ و گروه تجربی ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته ولی معنادار نبود. همچنین اختلاف معناداری در میانگین حجم کل استخوان در گروه‌های تجربی ٤ و تجربی ٤٠ در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نشد. چنین می‌توان احتمال داد که رشد و نمو این جنین‌ها در اثر عوامل مختلف مختل گردیده و باعث شده که سلول‌ها تحت تاثیر آنزیم‌های لیزوزومی بدن قرارگرفته و اتولیز شده و جذب بدن شود. این مکانیسم جذب جنین معادل مکانیسم سقط جنین در انسان است که این دلایل می‌توانند توجیه‌کننده جایگاه جفت بدون جفت و جنین یا جفت اضافی باشند [14]

در برخی از جنین‌های گروه تجربی٤٠ میکروملیا در اندام تحتانی و اسپینابیفیدا دیده شد. تتراندرین از آلکالوئیدهای زرشک است و نحوه عمل آن مهار سنتز کلاژن است. به نظر می‌رسد که این آلکالوئید زرشک با تاثیر بر سنتز کلاژن و مهار آن روی تشکیل و تکامل استخوان اثر گذاشته و موجب استخوان‌های کوچک غیرعادی و اندام‌های کوتاه در ناهنجاری میکروملیا، شده است. از طرفی ستون فقرات از مهره‌هایی درست شده که پشت سر هم از بالا به پایین ردیف شده‌اند. هر مهره از دو قسمت تشکیل شده است. یک قسمت جلویی که به شکل یک استوانه است و یک قسمت پشتی که شامل تیغه‌های استخوانی است که به نحوی به یکدیگر متصل شده‌اند که یک حلقه را تشکیل می‌دهند. در درون این حلقه نخاع قرار دارد. در اسپینابیفیدا این قسمت حلقوی مشکل داشته و در پشت آن شکافی وجود دارد که این اختلال در تمایز می‌تواند در اثر وجود آلکالوئید تتراندرین در زرشک باشد که نحوه عمل آن مهار سنتز کلاژن است درحالی‌که کلاژن نقش مهمی در سازمان یافتگی استخوان‌ها دارد [3.26] ~

مطالعات پریور و همکاران نشان داد که اسیدآسکوربیک تاثیر افزایشی روی رشد اندام جلویی موش دارد که این افزایش وابسته به دوز است [27] .از آنجایی‌که زرشک حاوی مقادیری از ویتامین C است می‌توان گفت روند افزایشی استخوان‌سازی در اندام عقبی می‌تواند ناشی از وجود ویتامین C در زرشک باشد که نتایج حاصل از آزمایش این مطالعه با این موضوع همخوانی دارد.

از فاکتورهای احتمالی دخیل آلکالوئید موجود در میوه زرشک یعنی بربرین است که یک کاتیون آلی بوده و از غشاء سلول به آسانی عبور کرده و با مولکول DNA تشکیل کمپلکس می‌دهد. این کمپلکس تشکیل شده باعث تغییرات ساختمانی در DNA می‌شود و کارکرد تنظیمی ژن‌ها را تغییر داده و در نهایت در مسیر تمایز اختلال ایجاد می‌کند. مکانی که بربرین در ساختمان DNA قرار می‌گیرد به‌عنوان یک فاکتور مهم در ایجاد اختلافات در القای تمایز است. از طرفی یکی از عملکردهای بربرین مهار عمل آنزیم توپو ایزومراز I و II است. عملکرد این دو آنزیم به این‌گونه است که این آنزیم‌ها روی مارپیچ DNA اثر گذاشته و در نحوه قطع و وصل پیوندهای فسفودی استر شرکت می‌کنند. نبود این آنزیم‌ها از سنتز DNA جلوگیری می‌کند و کاهش یا مهار کامل این آنزیم‌ها باعث ایجاد تغییرات توپولوژیکی در DNA می‌شوند [28]. بنابراین تشکیل کمپلکس پروتو بربرین‌ها و مشتقاتش با DNA می‌تواند باعث توقف رشد جنین شده یا عملکرد این کمپلکس باعث کند شدن رونویسی شده و منجر به آسیب به رشد جنین می‌گردد. پس می‌توان گفت که مصرف بالای عصاره

زرشک بر سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک تاثیر گذاشته و تولید پروتئین و RNA را در سلول‌ها مهار می‌کند. گرچه کاهش لیپید و نیز کاهش گلوکز خون مادر و خون جنین نیز می‌توانند در کاهش رشد جنین موثر باشند [29] .

در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت که تجویز ٤ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره زرشک به موش باردار به‌عنوان محرک رشد استخوانی جنین‌ها عمل کرده است و به میزان اندکی بر رشد جنین تاثیر داشته ولی تجویز ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره زرشک به موش باردار توانسته تا حدی به اختلال رشد و نمو جنین‌ها از جمله استئوژنز آنها شود. در پایان چنین به نظر می‌رسد که تاثیرپذیری جنین‌ها از عصاره زرشک وابسته به دوز این عصاره است و احتیاطات لازم در مورد مصرف بیش از حد زرشک را در دوران بارداری می‌طلبد.

منابع

[1] Arayne MS, Sultana N, Bahadur SS. 2007, The berberis story: Berberis vulgaris in therapeutics. Pak J Pharm Sci. Jan;20 (1): 83-92.

[2] Blankenship LH, Adams LG, Robinson RM, Ellisor JE. 1976, Hepatic fatty cirrhosis in Texas white-tailed deer. J Wildl Dis. Jul;12 (3): 396-401.

[3] Cordell GA, Suuthon IW,Buckingham J. 1989,Dictionary of alkaloids Chapman and Hall 243-244.

[4] Dezfulian A, Shariatzadeh SMA. [Histology]. 2007, AEEIZH. Persian.

[5] Dixit VP, Guta RS. 1984, Effect of dihydropalmitinium hydroxid isolated from the roots of Berberis chitria on intact/ sprayed/ estradiiol dipropionat pregnant female gribils (Merionens hurrianae serdon) proceeding of Indian Academic sciences , Animal sciences. 93 (7): 619-637.

[6] Eidi A , Zarin Ghalam J, Rezazade Sh A, Adeli R. 2011; [Hepatoprotective effect of Berberis vulgaris L. extract on C Cl4-induced toxicity in rat] Kowsar Medical Journal. Vol. 16, No. 3. Persian.

[7] Fatehi Hassanabad Z, Jafarzadeh M, Tarhini A, and Fatehi M. 2005, The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract from Berberis vulgaris fruit on hypertensive rats. Phytother Res. 19: 222-225.

[8] Fujita S, Hamatomto I, Nakamara K, Tanak K, Ozowak. 1993, Evalution of oxygen neccessity during hypotermy liver perfusion , Nippon Geka Hokan. 62 (5): 228-240.

[9] Kang JJ, Samad MA, Kim KS, Bae S. 2014 ,Comparative anti-inflammatory effects of anti-arthritic herbal medicines and ibuprofen. Nat Prod Commun. ;9 (9): 1351-6.

[10] Keller K, Hansel R, Chandler RF. 1997, Adverse effect of herbal drugs Berlin. Springer pub.

[11] Li H, Ma Q, Al P, Zhang HM, Li M. 2015, reatment of chemotherapy-induced leucopenia in patients with malignant tumor by Chinese herbal medicine: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi;35 (2): 157-66.

[12] Lou T, Zhang Z, Xi Z, et al. . 2010, Berberine Inhibits Inflammatory Response and Ameliorates Insulin Resistance in Hepatocytes, Inflammation.

[13] Potopslshii AL, Akishina TM, Shishka GV, 1975, Antimicrobic and antineoplastic properties of alkaloids of greater celandine and their thiophosphamide derivatives. Microbial ZH 37 (6): 755-9- chemical Abstract; 84 (13): 1-5.

[14] Sadeghifar F, Parivar K, Ayatollahi M. Biological,1996, Effects of alcohol aqueous extract of barberry fruit (Berberis vulgaris) on the growth of mouse embryo. MS Thesis, Tehran Teacher Training University;34 (1): 67-77.

[15] Sarashti M. 2006, Consumption of herbal drugs in pregnant women. Shahrekord J Reprod and Nonreproductive;7 (2): 125-131.

[16] Shamsa F, Ahmadiani A, Khosrokhavar R. 1999, Antihistaminic and anticholinergic activity of barberry fruit (Berberis vulgaris) in the guinea-pig ileum. J Ethnopharmacol; 64: 161-166.

[17] Singh N, Kaushik NK, Mohanakrishnan D, Tiwari SK, Sahal D. 2015 , Antiplasmodial activity of medicinal plants from Chhotanagpur plateau, Jharkhand, India. J Ethnopharmacol. 13; 165: 152-62.

[18] Sun X. , Zhang X. , Hu H, et al, 2009. Berberine inhibits hepatic stellate cell proliferation and prevents experimental liver fibrosis, Biological & Pharmaceutical Bulletin.; 32 (9): 1533–7.

[19] Wu LY, Ma ZM, Fan XL, et al. 2009,The anti-necrosis role of hypoxic preconditioning after acute anoxia is mediated by aldose reductase and sorbitol pathway in PC12 cells, Cell Stress & Chaperones.; 15 (4): 387–94.

[20] Yin J, Gao Z, Liu D, Liu Z, Ye J. 2008, Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis, American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolis; 294 (1): 148–56.

[21] Yin J, Xing H, Ye J. 2008, Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus,Metabolism: Clinical and Experimental. ; 57 (5): 712–7.

[22] Yin J, Xing H, Ye J. 2008,Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus,Metabolism: Clinical and Experimental; 57 (5): 712–7.

[23] Yu KM,1992 Relation Between Placental Morphometry and Fetal Growth; 27 (4): 187-9.

[24] Yuan Heng T, Jeanette F, Marnane William C. Antisecretory. 1981, effects of berberin in rat ileum, American Journal of physiology; 241 (3).