

مقایسه اثر ضد اضطرابی عصاره هیدروالکلی گل بابونه در موش‌های سوری نر و ماده بالغ در حضور و فقدان غدد جنسی

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۳/۲۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۴

گلی پورمهدی راد^{*}، دکتر مهناز کسمتی^{**}

^{*} دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم

^{**} دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم

چکیده

زمینه و هدف: برای عصاره گل بابونه اثرات تسکینی و ضد اضطرابی مطرح شده است. همچنین نشان داده شده این داروی گیاهی دارای ترکیبات فیتواستروژنی است. با توجه به نقش متفاوت هورمون‌های جنسی در پدیده‌های مختلف فیزیولوژیک از جمله اضطراب، به نظر می‌رسد این دارو در جنس نر و ماده متفاوت عمل نماید. لذا در این تحقیق خاصیت ضد اضطرابی بابونه در حضور و فقدان غدد جنسی در دو جنس مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش کار: در این مطالعه آزمایشگاهی که در سال ۱۳۸۵ در دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد از ۱۱۲ موش سوری نر و ماده بالغ نژاد NMRI در ۱۶ گروه ۷ تایی شامل: دست نخورده، شاهد (شم)، فاقد غدد جنسی و دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی گل بابونه (۱۰، ۳۰، ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شد. ماز به علاوه مرتفع برای ارزیابی اضطراب و فعالیت حرکتی کلیه گروه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA، آزمون t و توکی برای مقایسه میانگین‌ها به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و سطح معنی داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: عصاره گل بابونه در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش اضطراب در موش‌های نر دست نخورده ($P < 0.05$) و فاقد غدد جنسی شد ($P < 0.05$) در حالی که در هیچ دوزی تأثیری بر میزان اضطراب در موش‌های ماده دست نخورده و فاقد غدد جنسی نداشت. حذف غدد جنسی باعث افزایش اضطراب در موش‌های نر نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0.05$). حذف غدد جنسی در موش‌های ماده نسبت به گروه شاهد تأثیری بر میزان اضطراب نداشت. عصاره بابونه در دوزهای مختلف بر فعالیت حرکتی موش‌های نر اثری نداشت و در موش‌های ماده فقط در دوز ۵۰ mg/kg باعث کاهش فعالیت حرکتی شد ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد اثر ضد اضطرابی بابونه وابسته به جنس بوده و احتمالاً ترکیبات فیتواستروژنی موجود در بابونه مسئول این اختلاف اثر در جنس نر و ماده می‌باشد. (مجله طبیب شرق، دوره ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۸، ص ۱۹ تا ۲۹)

کلیدواژه‌ها: اضطراب، غدد جنسی، گل بابونه، ماز به علاوه مرتفع، موش سوری

مقدمه

پدیده اضطراب نشان داده اند اما سیستم گاباآرژیک و گیرنده گابا A از مهم‌ترین سیستم‌های درگیر در اضطراب به‌شمار می‌آید.^(۱) برای درمان اضطراب از بنزودیازپین‌ها و باربیتورات‌ها استفاده می‌شود اما با توجه به اثرات مضر این داروهای شیمیایی

اضطراب حالتی است که هر فرد در زندگی آن را تجربه می‌کند. نشان داده شده است که کاهش آستانه سیناپسی در زمان اضطراب باعث افزایش پاسخ تدافعی به تحریکات معمولی می‌شود. مطالعات نقش سیستم‌های نوروشیمیایی وسیعی را در

تلاش برای یافتن داروهای تسکین دهنده و ضد اضطراب کم‌ضررتر آغاز شده است و در این راستا تولید داروهایی با منشأ گیاهی گسترش یافته است. همچنین مشخص شده داروهایی با منشأ گیاهی اگر با سایر ترکیبات موجود در همان گیاه به مصرف برسند عوارض جانبی‌شان کمتر می‌شود.^(۲)

در سال‌های اخیر چندین بنزودیازپین و لیگندهای مشابه آن در منابع طبیعی و گیاهان دارویی شناسایی شده مثلاً فلاونوئیدهایی با عملکرد مشابه بنزودیازپین‌ها و فیتواستروژن‌ها از گیاه بابونه استخراج گردیده است.^(۳-۵) همچنین فلاونوئید اپی‌ژنین جدا شده از بابونه تمایل قوی به گیرنده بنزودیازپین دارد که موجب اثرات خواب‌آوری و ضد اضطرابی می‌شود.^(۶)

کرایزین نیز یک فلاونوئید موجود در بابونه است که به گیرنده بنزودیازپین متصل می‌شود. ضمناً نشان داده شده دیازپام و کرایزین در مدل حیوانی تعداد ورود به بازوی باز و زمان حضور در این بازو را در تست اضطراب سنجی ماز به علاوه مرتفع افزایش می‌دهند که نشانه اثر اضطراب‌زدایی این دو ماده است. این اثر کرایزین با تجویز قبلی آنتاگونیست گیرنده بنزودیازپینی (RO-15-1788) از بین می‌رود.^(۷،۸)

فلاونهای موجود در غذاهای گیاهی قدرتی استروژنی دارند که به آنها فیتواستروژن گفته می‌شود. همچنین مشخص شده که فیتواستروژنها و فلاون اپی‌ژنین موجود در بابونه باعث مهار فعالیت آروماتاز تخمدانی و کاهش ساخت استروژن می‌شود که حاکی اثر ضد استروژنی آن است. در تحقیقی فیتواستروژنها اثرات ضد اضطرابی نشان‌دادند که ممکن است ناشی از تغییر در گیرنده گابا یا اثر بر آن باشد^(۵،۹) از طرفی عصاره بابونه در دوزهای بالا اثرات ضعیف آگونیست استروژنی و پروژسترونی نشان‌داده است که خصوصیت فوق را به فلاون اپی‌ژنین موجود در آن نسبت می‌دهند.^(۴)

با توجه به نقش ضد اضطرابی ترکیبات فلاونوئیدی شبه بنزودیازپینی بابونه و نیز با توجه به وجود ترکیبات فیتواستروژنی و تاثیر آنها بر مکانیسم‌های دخیل در اضطراب، به نظر می‌رسد

که این گیاه دارویی در موجودات نر و ماده به طور متفاوت عمل کند. لذا در این مطالعه اثر ضد اضطرابی عصاره هیدروالکلی بابونه با استفاده از دستگاه ماز به‌علاوه مرتفع در موش‌های سوری نر و ماده در حضور و فقدان غدد جنسی مورد بررسی قرار گرفت تا میزان اثر ضد اضطرابی آن بین دو جنس مقایسه شده و تداخل و یا وابستگی احتمالی این اثر بابونه به هورمون‌های جنسی داخلی مشخص گردد.

روش کار

در این مطالعه آزمایشگاهی که در سال ۱۳۸۵ در دانشگاه شهید چمران انجام شد از ۱۱۲ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر و ماده بالغ سه ماهه نژاد Naval (NMRI) Medical Research Institute خریداری شده از مؤسسه رازی حصارک کرج استفاده شد. میانگین وزن موش‌های نر $35 \pm 4/5$ گرم و موش‌های ماده 30 ± 4 گرم بود. حیوانات به طور تصادفی در ۱۶ گروه ۷ تایی نگهداری شدند. محل نگهداری حیوانات دارای سیستم تنظیم نور ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دمای 22 ± 3 درجه سانتیگراد بود. در طول مدت آزمایش موش‌ها از آب لوله کشی شهر و غذای فشرده ساخت شرکت دام پارس تهران تغذیه شدند. یک هفته قبل از آزمایش همه موش‌ها روزانه به مدت ۵ دقیقه نوازش می‌شدند تا از استرس‌های اضافی در هنگام آزمایش ممانعت شود. جهت سازگاری با محیط ۲ ساعت قبل از آزمایش موش‌ها از محل نگهداری به اتاق تست آورده شدند و در طی آزمایش و قبل از آن سعی شد که محیطی آرام و کم‌استرس برایشان فراهم گردد. گروه‌های نر و ماده به طور مجزا و تصادفی به گروه‌های: سالم دریافت‌کننده سالین، دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بابونه ($10, 30, 50 \text{ mg/kg}$)، گروه شم (شاهد جراحی)، فاقد غدد جنسی، فاقد غدد جنسی دریافت‌کننده سالین و گروه فاقد غدد جنسی دریافت‌کننده دوز موثر بابونه تقسیم شدند.

جهت برداشت غدد جنسی حیوانات قبل از جراحی با داروی کتامین (100mg/kg) و گزیلازین (10mg/kg) به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند و سپس تحت عمل جراحی حذف غدد جنسی (Ovariectomy و Testectomy) قرار گرفتند. بدین صورت که در جنس ماده با برش طولی پوست و ماهیچه‌های شکمی و کنار زدن امعا و احشا و پس از بستن شریان ورودی، تخمدان‌ها به وسیله قیچی جراحی جدا شدند. سپس محتویات شکمی برگردانده شد و ماهیچه‌های شکمی و پوست به طور جداگانه با نخ جراحی بخیه شدند. پس از بخیه محلول بتادین در محل زخم مالیده شد.

در جنس نر با ایجاد شکافی با تیغ جراحی در اسکروتوم بیضه‌ها بیرون آورده شد و پس از بستن شریان، توسط قیچی بریده و خارج گردید و سپس محل جراحی بخیه شد. در نهایت در محل جراحی موش‌های نر نیز بتادین مالیده شد. در گروه‌های شاهد شم نر و ماده کلیه مراحل جراحی بدون برداشت غدد جنسی انجام شد. کلیه موش‌های جراحی شده، پس از دریافت آنتی بیوتیک پنی سیلین و ایجاد شرایط مناسب جهت جلوگیری از عفونت و پس از گذشت ۱۵ روز دوره بهبودی، برای انجام تست مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به رعایت شرایط بهداشتی در حین جراحی و پس از آن تعداد تلفات حیوانات بسیار اندک بود (۲ سر ماده و ۱ سر نر) برای حیوانات تلف شده جایگزین در نظر گرفته شد.

در تحقیق حاضر برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل بابونه از روش خیساندن استفاده شد، برای این کار ابتدا سر شاخه‌های گل‌دار خشک شده گیاه به وسیله آسیاب برقی پودر شد. در مرحله بعد ۲۰ گرم پودر بابونه درون یک ظرف شیشه‌ای درب‌دار ریخته و ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درجه به آن اضافه شد پس از بستن در ظرف، پودر به مدت ۴۸ ساعت در حلال نگهداری و هر ۱۲ ساعت یک بار محتویات ظرف تکان داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت محتویات ظرف به وسیله کاغذ صافی و قیف صاف گردید، محلول صاف شده در دستگاه

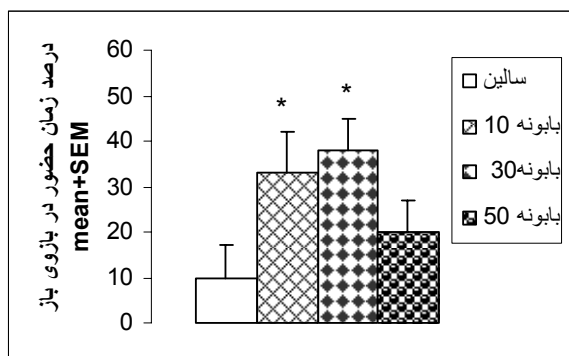
روتاری و پمپ خلأ قرار داده شد تا اتانول خارج گردد. پس از خارج شدن حلال، مایع غلیظ حاصل روی شیشه‌ای پهن و خشک گردید. بعد از آن عصاره خشک شده جمع‌آوری و از آن برای تهیه دوزهای مورد نظر عصاره هیدروالکلی بابونه استفاده شد.

پودر بابونه در دوزهای 50mg/kg ، ۳۰ و ۱۰ در ۱۰ میلی‌لیتر سالین حل شده و حجم به دست آمده متناسب با وزن حیوان به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. حجم مشابه سالین نیز متناسب با وزن بدن حیوانات در گروه کنترل به طریق داخل صفاقی تزریق گردید. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق داروها، موش‌ها در دستگاه ماز به‌علاوه مرتفع تست شدند.^(۳)

دستگاه ماز به‌علاوه مرتفع در حال حاضر معتبرترین وسیله برای تولید و ارزیابی اضطراب در مدل حیوانی است. این دستگاه چهار بازو (دو بازوی باز و دو بازوی بسته) دارد که بازوهای باز مقابل هم و بازوهای بسته نیز روبروی یکدیگر هستند. دستگاه در ارتفاع ۵۰ سانتیمتر از سطح زمین قرار می‌گیرد و باید در طی آزمایش یک لامپ در فاصله یک متری بالای دستگاه روشن باشد. طول و عرض هر یک از بازوهای این دستگاه به ترتیب ۳۰ و ۵ سانتیمتر و اندازه دیواره‌های اطراف بازوی بسته ۱۵ سانتیمتر و قسمت مرکزی دستگاه مربعی به ابعاد ۵ سانتیمتر است.^(۱۳-۱۱) بهترین معیار برای اندازه‌گیری اضطراب درصد زمان حضور در بازوی باز و تعداد ورود به بازوی باز است که در آزمایش حاضر این دو معیار یکسان عمل کردند بنابراین فقط از درصد زمان حضور در بازوی باز برای ارزیابی اضطراب استفاده شد. لازم به ذکر است که زمان حضور در بازوی باز و تعداد ورود به این بازو با میزان اضطراب رابطه عکس دارد یعنی هرچه زمان حضور و تعداد ورود در بازوی باز بیشتر باشد اضطراب کمتر است و برعکس.

در این دستگاه تعداد ورود به بازوی بسته شاخص فعالیت حرکتی حیوان محسوب می‌شود. هرچه تعداد ورود به بازوی بسته بیشتر باشد نشانه افزایش فعالیت است و برعکس تعداد

بابونه در دوزهای ۱۰ و ۳۰ گرم بر کیلوگرم اثر ضد اضطرابی در موش های نر اعمال می کند. با توجه به اینکه دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره اثر ضد اضطرابی بیشتری با سطح معنی داری بهتری اعمال نمود این دوز برای مراحل بعدی به کار برده شد.



نمودار-۱ اثر عصاره بابونه در دوزهای ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر درصد زمان حضور در بازوی باز تست در ماز به علاوه مرتفع در موش های نر * ۰/۰۵ < P معنی دار است

جدول ۱- میانگین تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت حرکتی) در گروه های شاهد، دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره بابونه در موش های نر و ماده دست نفورده و فاقد غدد جنسی

جنس	گروه ها	تعداد ورود به بازوهای بسته (شاخص فعالیت حرکتی) (خطای معیار ± میانگین)
نر	سالین	۱۰/۱ ± ۱/۲
	عصاره بابونه ۱۰ mg/kg	۸/۱ ± ۰/۹
	عصاره بابونه ۳۰ mg/kg	۹ ± ۰/۷
	عصاره بابونه ۵۰ mg/kg	۸/۱ ± ۱/۳
	شاهد نر	۹/۵ ± ۱/۲
	نر فاقد غدد جنسی	۸ ± ۰/۷
	نر فاقد غدد جنسی + سالین	۸/۱ ± ۰/۸
	نر فاقد غدد جنسی + عصاره بابونه ۳۰ mg/kg	۹/۶ ± ۰/۹
ماده	سالین	۹/۳ ± ۱/۲
	عصاره بابونه ۱۰ mg/kg	۱۲/۴ ± ۰/۳
	عصاره بابونه ۳۰ mg/kg	۷ ± ۱/۳
	عصاره بابونه ۵۰ mg/kg	۵/۳ ± ۰/۹*
	شاهد ماده	۹/۳ ± ۱
	ماده فاقد غدد جنسی	۱۲ ± ۱/۵
	ماده فاقد غدد جنسی + سالین	۱۱/۸ ± ۰/۷
	ماده فاقد غدد جنسی + عصاره بابونه ۳۰ mg/kg	۱۰ ± ۱

* ۰/۰۵ < P معنی دار است

ورود به بازوی بسته هرچه کمتر باشد به منزله کاهش فعالیت حرکتی تلقی می شود.^(۱۱-۱۴) بررسی فعالیت حرکتی حیوانات در این تست به منظور تفکیک اثر ضد اضطرابی دارو با اثر کاهش فعالیت حرکتی می باشد.

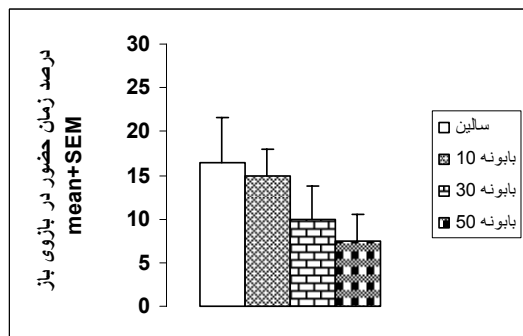
۳۰ دقیقه بعد از تزریق عصاره بابونه، موش در وسط دستگاه به طوری که سر آن به سمت بازوی باز باشد قرار داده شد و مدت زمان و دفعات حضور در بازوها در مدت زمان تست (۵ دقیقه) اندازه گیری و یادداشت شد. از هر حیوان فقط یک بار در آزمایش استفاده شد و پس از خاتمه هر تست تمام بخش های دستگاه که با موش در تماس بودند با پنبه و الکل تمیز و خشک گردید، پس از آن موش بعدی در دستگاه قرار داده شد.^(۹،۱۰)

کلیه آزمایش ها بین ساعت ۱۰ صبح تا ۳ بعدازظهر در فاز روشنائی و در آزمایشگاه بخش زیست شناسی دانشگاه شهید چمران انجام شد. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و آزمون t برای مقایسه میانگین ها و آزمون توکی برای نشان دادن تفاوت میانگین ها، به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی داری در این حالات $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. نمودارها بر اساس $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ رسم شدند.

یافته ها

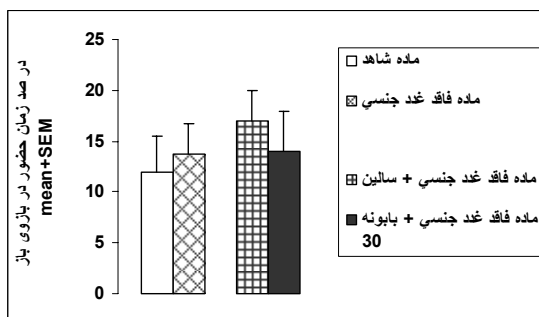
نمودار شماره ۱ درصد زمان حضور در بازوی باز (شاخص اضطراب) را در گروه های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی بابونه در دوزهای ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و گروه سالین نشان می دهد. آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تست توکی در دوزهای ۱۰ و ۳۰ اختلاف معنی داری در درصد زمان حضور در بازوی باز در مقایسه با گروه شاهد نشان داد ($P < ۰/۰۵$) اما دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بابونه تفاوت معنی داری با گروه سالین نداشت. دوزهای مختلف عصاره بابونه تأثیری بر تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت حرکتی) در موش های نر نشان نداد (جدول ۱). بدین ترتیب می توان گفت

دوز ۵۰ میلی گرم اختلافی با گروه شاهد نشان داده است بدین ترتیب که بابونه در دوز مذکور باعث کاهش میزان فعالیت حرکتی در موش‌های ماده شد ($P < 0.05$).



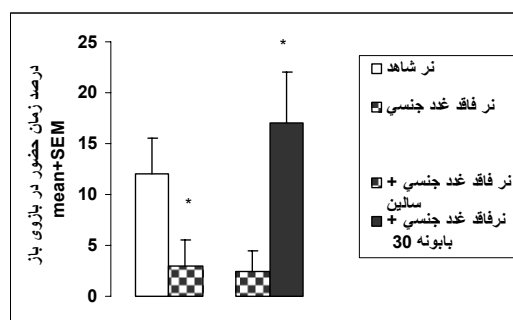
نمودار ۳ - اثر عصاره بابونه در دوزهای ۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر درصد زمان مضمور در بازوی باز تست ماز به علاوه مرتفع در موش‌های ماده

نتیجه آنکه بابونه در دوزهای مختلف اثر ضد اضطرابی در موش‌های ماده اعمال نمود و با افزایش دوز، اثر مهاری بر فعالیت حرکتی داشت. از آنجا که میزان فعالیت حرکتی در دوزهای بالای عصاره بابونه کاهش می‌یابد دوز پایین‌تر از آن یعنی ۳۰ میلی گرم بابونه که غیر موثر بر فعالیت حرکتی است برای مراحل بعدی انتخاب شد. همچنان که در نمودار ۴ و جدول ۱ ملاحظه می‌شود گروه‌های ماده فاقد غدد جنسی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر درصد زمان حضور در بازوی باز و تعداد ورود به بازوی بسته نداشتند. بدین ترتیب حذف هورمون‌های جنسی تخمدانی تاثیری بر فرآیند اضطراب و فعالیت حرکتی در موش‌های ماده نداشت.



نمودار ۴ - اثر حذف غدد جنسی و عصاره بابونه ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر درصد زمان مضمور در بازوی باز تست ماز به علاوه مرتفع در موش‌های ماده

در نمودار ۲ شاخص اضطراب (درصد زمان حضور در بازوی باز) در موش‌های نر فاقد غدد جنسی و شاهد آن و گروه دریافت کننده عصاره بابونه ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه مشابه دریافت کننده سالیین مقایسه شده است. آزمون‌های آماری اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های فوق با شاهدشان نشان داد. اما از نظر تعداد ورود به بازوی بسته به عنوان شاخص فعالیت حرکتی بین گروه‌های فوق با گروه‌های شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). به عبارت دیگر حذف هورمون‌های جنسی باعث افزایش اضطراب در موش‌های نر شد و عصاره بابونه توانست اثر ضد اضطرابی خود را در موش‌های فاقد هورمون‌های جنسی نر اعمال نماید اما در حالات مختلف تغییر در وجود اضطراب بدون تاثیر بر فعالیت‌های حرکتی صورت گرفت.



نمودار ۲ - اثر حذف غدد جنسی و عصاره بابونه (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر درصد زمان مضمور در بازوی باز (شاخص اضطراب) در موش‌های نر * $P < 0.05$ معنی‌دار است

در نمودار ۳ شاخص اضطراب یا زمان حضور در بازوی باز در موش‌های ماده دریافت کننده دوزهای گوناگون بابونه (۱۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با گروه سالیین مورد مقایسه قرار گرفته است. آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌ها و در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. همچنین مقایسه آماری میزان ورود به بازوی بسته (معیار فعالیت حرکتی) در جدول ۱ نشان می‌دهد که عصاره بابونه در دوزهای ۱۰ و ۳۰ mg/kg تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر فاکتور مذکور در موش‌های ماده نداشته و آزمون آنالیز واریانس و توکی فقط در

از سوی دیگر در نمودار ۴ دو گروه موش ماده فاقد غدد جنسی دریافت کننده دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم بابونه با گروه شاهد مورد مقایسه قرار گرفته است که آزمون های آماری اختلاف معنی داری را بین این دو گروه نشان نداد. دو گروه فوق از نظر تعداد ورود به بازوی بسته (یا فعالیت حرکتی) نیز اختلاف معنی داری نداشتند. بدین ترتیب عصاره بابونه در موش های ماده و در حضور و غیاب هورمون های جنسی اثر ضد اضطرابی نشان نداد و این دوز مشابه حیوانات دست نخورده تغییری در فعالیت حرکتی ایجاد نکرد. می توان چنین نتیجه گیری نمود که عصاره هیدروالکلی گل بابونه اثر تسکینی کمتری بر موش ماده دارد اما در دوزهای بالا باعث کاهش فعالیت حرکتی می شود.

بحث

در این کار پژوهشی نقش ضد اضطرابی عصاره هیدروالکلی بابونه در موش های کوچک آزمایشگاهی نر و ماده بالغ در حضور و غیاب غدد جنسی بررسی شد تا هم اثر عصاره هیدروالکلی بابونه بر اضطراب و هم نقش هورمون های جنسی نر و ماده بر اثر ضد اضطرابی بابونه مشخص شود. مقایسه بین گروه های دریافت کننده عصاره بابونه و گروه شاهد تزریق نشان داد که عصاره بابونه در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور وابسته به دوز اثر ضد اضطرابی در موش های نر ایجاد نمود و بیشترین اثر ضد اضطرابی بابونه در دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. در حالی که در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم این اثر معنی دار نبود. ضمناً بابونه در دوزهای فوق تغییر قابل ملاحظه ای را در شاخص فعالیت حرکتی ایجاد ننمود در خصوص اثر ضد اضطرابی بابونه مطالعاتی وجود دارد که موید نتایج فوق می باشد. برای مثال یامادا و همکاران گزارش دادند که استنشاق بخار بابونه در موش های صحرایی، استرس ناشی از محدود ساختن حیوان را کاهش داده و باعث کاهش هورمون ACTH در موش های صحرایی فاقد تخمدان می شود. ضمناً

مشخص شد که بابونه بر روی سیستم های دخیل در اضطراب مانند سیستم گابا اثر می کند و پیشنهاد شد که ممکن است مشابه آگونیست بنزودیازپین عمل کرده باشد.^(۱۱) لازم به ذکر است که بنزودیازپین ها از داروی های موثر بر اضطراب هستند. همچنین نشان داده اند که عصاره متانولی بابونه چندین لیگاند گیرنده بنزودیازپینی دارد که مکانیسم عمل آنها هنوز در حال بررسی است.^(۳،۶) بدین ترتیب به نظر می رسد که اثر ضد اضطرابی این گیاه دارویی از طریق تغییر در فعالیت حرکتی نبوده و احتمالاً از طریق ترکیبات شبه بنزودیازپینی آن می باشد. از طرفی مقایسه گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بابونه و گروه شاهد تزریق در موش های ماده نشان داد که عصاره بابونه تغییری در میزان اضطراب موش های ماده در تست ماز به علاوه مرتفع ایجاد نمی کند اگر چه به طور نسبی با کاهش حضور در بازوی باز باعث افزایش اضطراب در موش های ماده می شود. همچنین بابونه فقط در دوز ۵۰ mg/kg باعث کاهش معنی دار فعالیت حرکتی نسبت به گروه شاهد تزریق شد. این تفاوت در پاسخ و یا عدم حساسیت موش های ماده به اثر ضد اضطرابی عصاره بابونه به چند صورت می تواند قابل توجیه باشد: برخی مطالعات نشان داده اند چونندگان ماده در تست میدان باز و ماز به علاوه مرتفع و تست واکنش اجتماعی به طور معمول کاهش اضطراب نشان می دهند در حالی که در تست های دیگر ماده ها نسبت به نرها مضطربتر هستند.^(۱۵،۱۶)

از سوی دیگر بسیاری از مطالعات نشان دادند که در مغز دو سیستم ناقلین شیمیایی جنسی وجود دارد و یا این سیستم ها تحت تأثیر هورمون های استروئیدی گنادی قرار می گیرند. مثلاً گیرنده گابا A که مدوله کننده پدیده اضطراب است تحت تأثیر استروئیدهای آندروژنی قرار می گیرد.^(۱۷) همچنین کیلی و همکاران گزارش کردند که تفاوت جنسی در میزان حساسیت به چند داروی ضد اضطرابی مثل بنزودیازپین ها، آگونیست گیرنده سروتونین ۱A و اتانول وجود دارد.^(۱۸) با توجه به

مطالعات انجام شده و نتایج تحقیق حاضر گیاه بابونه احتمالاً مشابه سایر داروها در دو جنس اثر متفاوتی نشان می‌دهد.

بدین ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که فقدان خاصیت ضد اضطرابی بابونه در موش‌های ماده احتمالاً مربوط به تست‌های ارزیابی اضطراب، تفاوت جنسی و یا تأثیر هورمون‌های جنسی باشد. بنابراین در ادامه کار با حذف هورمون‌های جنسی از طریق برداشت غدد جنسی، میزان تأثیر عصاره بابونه بر اضطراب موش‌های نر و ماده را بررسی کردیم. در ابتدا با مقایسه بین گروه‌های شم و فاقد غدد جنسی در موش‌های نر نشان داده شد که حذف بیضه‌ها باعث افزایش اضطراب در موش‌های نر نسبت به گروه شاهد (شم) می‌شود اما بر میزان فعالیت حرکتی موش‌های نر تأثیر ندارد.

این نتیجه با نتایج سایر مطالعات که بر روی جوندگان صورت گرفته هم‌خوانی دارد. به طوری که کلارک و همکارانش گزارش دادند دوز بالای تستوسترون پروپیونات باعث کاهش اضطراب در موش‌های صحرایی نر در تست ماز به علاوه مرتفع می‌شود.^(۱۹) همچنین در آزمایشی دیگر مشخص شد که ۲۰ دقیقه بعد از رویارویی جنسی، با آزاد شدن تستوسترون اضطراب موش‌های سوری نر در تست ماز به علاوه مرتفع کاهش می‌یابد در حالی که در میزان فعالیت حرکتی تغییر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده نمی‌شود.^(۱۴)

در ادامه تحقیق نشان داده شد که عصاره بابونه (۳۰ mg/kg) در عدم حضور هورمون‌های بیضه نیز اثر ضد اضطرابی قابل ملاحظه‌ای اعمال می‌کند.

ماردر و همکاران نشان داده‌اند که برخی فلاونوئیدهای طبیعی (مانند فلاونوئیدهای بابونه) به جایگاه اتصالی بنزودیازپین در گیرنده گابا A متصل شده باعث فعالیت ضد اضطرابی می‌شوند.^(۲۰) از طرفی مشتقات بنزودیازپین با اتصال به پروتئین‌های خاصی در غشاء میتوکندری سلول‌های گلپای مغز باعث افزایش ورود کلسیترول به داخل سلول می‌شوند و به طور غیرمستقیم باعث تنظیم ساخت نورواستروئیدهای ضد اضطرابی

در مغز می‌گردند.^(۲۱) بدین ترتیب اثر ضد اضطرابی بابونه در موش‌های فاقد غدد جنسی مانند موش‌های سالم می‌تواند از طریق ترکیبات شبه بنزودیازپینی و تغییر در مکانیسم‌های دخیل در فرآیند اضطراب باشد. با بررسی گروه‌های موش‌های ماده فاقد غدد جنسی و شاهد آنها مشخص شد که حذف تخمدان‌ها در موش‌های ماده تغییری بر شاخص اضطراب و فعالیت حرکتی ایجاد نمی‌نماید و عصاره بابونه نیز اثر چندانی را اعمال نمی‌کند. در مورد نقش هورمون‌های تخمدانی بر اضطراب گزارشهای ضد و نقیضی وجود دارد به طوری که برخی مطالعات که در موش‌های سوری در تست میدان باز و ماز به علاوه مرتفع انجام شده نشان داده است که هورمون‌های تخمدانی اثرات مختلفی (شامل اثر اضطراب‌زایی، اضطراب‌زدایی و بی‌تأثیر بودن) در موش‌های صحرایی و موش‌های سوری دارند.^(۲۵-۱۱،۱۶،۲۲) در این مطالعه عدم تأثیر هورمون تخمدانی احتمالاً ناشی از نژاد موش‌ها و یا نوع تست ارزیابی اضطراب بوده است.

برخی مطالعات نشان داده‌اند که عصاره بابونه به سبب داشتن ترکیبات فیتواستروژنی گاهی به عنوان آگونیست ضعیف استروژن و پروژسترون عمل می‌کند.^(۴) از طرف دیگر گزارش‌هایی وجود دارند که فیتواستروژن‌های موجود در گل بابونه اثر ضد اضطرابی دارند.^(۵،۹) در حالی که در این تحقیق گل بابونه باعث کاهش اضطراب در موش‌های نر دست نخورده و بدون غدد جنسی شد اما تغییر چندانی بر اضطراب ناشی از ماز به علاوه مرتفع در موش‌های ماده ایجاد ننمود. این امر ممکن است مربوط به مدل ارزیابی اضطراب و یا ترکیبات فیتواستروژنی موجود در بابونه باشد که به صورت وابسته به جنس عمل می‌کند.

بررسی مدل‌های اضطراب سنجی نشان می‌دهد که همه مدل‌ها ابعاد مختلف اضطراب را نشان نمی‌دهند همچنان که بیشتر اشاره شد جوندگان ماده در تست میدان باز و ماز به علاوه مرتفع و تست واکنش اجتماعی نسبت به نر کاهش اضطراب نشان می‌دهند در حالی که در تست‌های دیگر ماده‌ها بر عکس

نرها عمل می کنند. (۱۶،۲۴،۲۵) این امر می تواند یکی از کاستی های تحقیق حاضر باشد که موجب می شود که با یک مدل اضطراب سنجی نتوانیم قضاوت دقیقی در رابطه با اثر عوامل مختلف داشته باشیم. لذا لازم است چندین مدل اضطراب سنجی مورد بررسی قرار گیرد.

در نهایت می توان چنین نتیجه گیری کرد که بابونه اثر ضد اضطرابی مناسبی در موش های نر در تست اضطراب سنجی ماز به علاوه مرتفع اعمال نموده و این اثر صرف نظر از وجود و یا عدم هورمون های بیضه بود در حالی که در مقادیر مشابه در موش ماده اثر قابل ملاحظه ای بر اضطراب مشاهده نشد. به نظر می رسد که بابونه با داشتن ترکیبات فیتو استروژنی، با هورمون های استروژنی و یا پروژسترونی موش ماده تداخل اثر داشته و احتمالاً از این طریق اثری متفاوت از موش نر را در

پدیده اضطراب نشان می دهد. برای روشن شدن این موضوع پیشنهاد می گردد تداخل اثر هر کدام از ترکیبات فیتو استروژنی بابونه و هورمون های جنسی به ویژه در جنس ماده و با استفاده از چندین مدل اضطراب سنجی و در سطح گیرنده های استروژنی و پروژسترونی مورد بررسی دقیق قرار گیرد تا میزان وابسته به جنس بودن اثر بابونه در پدیده اضطراب بیشتر مشخص شود.

سیاسگزارى

از دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر در اختیار قرار دادن منابع مالی و امکانات جهت انجام این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

References

1. Yamada K, Miura T, Mimake Y, et al. Effect of inhalation of chamomile oil vapor on plasma ACTH level in ovariectomized rat under restriction stress. *Bio Pharmaceut Bul.* 1996; 19(9):1244-6.
2. Dhavan K, Dhawan S, Chhabra S. Attenuation of benzodiazepine dependence in mice by a trisubstituted benzoflavone moiety of passiflora incarnata Linneaus: a non-habit forming anxiolytic. *J Pharm Pharmaceut Sci.* 2003; 6 (2):215-22.
3. Avallone R, Zanolli P, Puia G, et al. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochem Pharmacol.* 2000; 59(11):1387-94.
4. Zand RS, Jenkins DJ, Diamandis EP. Effects of natural products and nutraceuticals on steroid hormone-regulated gene expression. *Clin Chim Acta.* 2001; 312:213-19.
5. Pelissero C, Lenczowski MJP, Chinzi D, et al. Effects of flavonoids on aromatase activity, an invitro study. *Steroid Biochem Molec Biol.* 1996; 57(3/4):215-23.
6. Viola H, Wasowski C, Levidestein M, et al. Apigenin a component of *Matricaria recutita* flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta Medica.* 1995; 61:213-16.

7. Wolfman C, Viola H, Paladini A, et al. Possible anxiolytic effects of cysine, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *passiflora coerulea*. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994; 47(1):1-4.
8. Hui KM, Huen MS, Wang HY, et al. Anxiolytic effect of wogonin, a benzodiazepine receptor ligand isolated from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochem Pharmacol.* 2002; 64:1415-24.
9. Lund TD, Lephart ED. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze. *Brain Res.* 2001; 913:180-184.
10. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav Brain Res.* 2001; 125:141-9.
11. Galeeva A, Tuohimaa P. Analysis of mouse plus-maze behavior modulated by ovarian steroids. *Behav Brain Res.* 2001; 119 (1):41-47.
12. Holmes A, Parmigiani S, Ferrari PF, et al. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physio & Behav.* 2000; 71:509-16.
13. Wall PM, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosc Biobehav Rev.* 2001; 25:275-86.
14. Aikey JL, Nyby JG, Anmuth DM, et al. Testosterone rapidly reduces anxiety in male house mice. *Horm & Bhav.* 2002; 42: 448-60.
15. Palanza P. Animal models of anxiety and depression. How are females different? *Neurosc & Biobehav Rev.* 2001; 25:219-33.
16. Lucion AB, Charchat H, Pereira AM, et al. Influence of early postnatal gonadal hormones on anxiety in adult male rats. *Physio & Behav.* 1996; 60(6):1419-23.
17. Kelley SJ, Ostrowski NL, Wilson MA. Gender differences in brain and behavior: Hormonal and neural bases. *Pharmacol Biochem & Behav.* 1999; 64(4):655-64.
18. Clark AS, Henderson LP. Behavioral and physiological responses to anabolic-androgenic steroids. *Neurosc & Biobehav Rev.* 2003; 27:413-36.
19. Marder M, Estiu G, Blanch LB, et al. Molecular modeling and QSAR analysis of the interaction of flavone derivatives with the benzodiazepine binding site of the GABAA receptor complex. *Bioorgan & Medicin Chem.* 2001; 9:323-35.
20. Lambert JJ, Belelli D, Hill-Venning C, et al. Neurosteroids and GABAA receptor function. *Trends Pharmacol Sci.* 1995; 16:295-303.

21. Fernandez-Guasti A, Picazo O. Sexual differentiation modifies the allopregnanolone anxiolytic actions in rats. *Psychoneuroendocrinology*. 1999; 24:251-67.
22. Follesa P, Concas A, Porcu P, et al. Role of allopregnanolone in regulation of GABAA receptor plasticity during long-term exposure to and withdrawal from progesterone. *Brain Res Rev*. 2001; 37:81-90.
23. Gomez C, Saldivar-Gonzales A, Delgado G, et al. Rapid anxiolytic activity of progesterone and pregnanolone in male rats. *Pharm Biochem and Behav*. 2002; 72:543-50.
24. Morgan MA, Pfaff DW. Effects of estrogen on activity and fear-related behaviors in mice. *Horm & Behav*. 2001; 40:472-82.
25. Morgan MA, Pfaff DW. Estrogen's effects on activity, anxiety and fear in two mouse strains. *Behav Brain Res*. 2002; 132:85-93.

Comparison of Anxiolytic Effect of *Matricaria Recutita* in Male and Female Mice in the Presence and Absence of Gonads

Received: 17/Jun /2008

Accepted: 14/Mar /2009

Pourmehdi Rad Goli, BSc^{*}; Kesmati Mahnaz, PhD^{**}

Background: Some studies indicated that the chamomile induces sedative and anxiolytic effects. It has been shown that this herbal drug contains some phytoestrogenic components. Concerning the different effects of sexual hormones on various physiological phenomena such as anxiety, it seems this herb has different effects on anxiety in males and females. So in this study we examined anxiolytic property of Iranian spicuous of chamomile, *Matricaria recutita* (MR) hydroalcoholic extract in presence and absence of sexual glands in male and female animal models.

Materials and Methods: This animal study was done in Shahid Chamran University in 2006. NMRI male and female mice were divided in 16 groups of seven mice including: intact, sham, gonadectomized, receiving hydroalcoholic extract of MR (10, 30, 50 mg/kg, ip). Elevated plus maze was used to evaluate anxiety and locomotive activity in all groups. Statistical evaluation of data was performed using Student's *t*-test and analysis of variance (ANOVA) with one factor followed by Tukey test. $P < 0.05$ was considered significant.

Results: MR induced anxiolytic effect (10, 30 mg/kg) in intact ($P < 0.05$) and gonadectomized male mice ($P < 0.05$) while did not significant any effect on intact and gonadectomized females. Testectomized mice were more anxious than sham group ($P < 0.05$). Ovariectomized mice had no difference in level of anxiety with sham group. MR had no effect on locomotive activity in male mice but decreased it in females only in dose of 50 mg/kg ($P < 0.05$).

Conclusion: It seems that the anxiolytic effect of MR is sex dependent and probably this different effect in two sexes is related to its phytoestrogenic components.

KEY WORDS: Anxiety, Sexual glands, *Matricaria recutita*, Elevated plus maze, Mice

* Student of Master of Science, Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

** Assistant Prof, Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran