اثر عصاره هیدروالکلی بابونه گاوی (*Tanacetum parthenium*) بر هورمون‌های جنسی موش سوری نر نژاد NMRI

مریم سلیمانی[۱]، مینا رمضانی[۲*]، فاطمه سیادت[۳]

۱- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران
۳- گروه زیست شناسی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران
مسئول مکاتبات: m.ramezani@iauctb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۶

چکیده

امروزه عصاره گیاه بابونه گاوی (*Tanacetum parthenium*) به صورت قطره یا قرص در داروخانه‌ها موجود است و در درمان بسیاری از بیماری‌ها به ویژه میگرن کاربرد وسیعی دارد. از اینرو مطالعه اثرات عصاره هیدروالکلی این گیاه بر هورمون‌های جنسی مردانه ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر با وزن تقریبی۴۰-۳۵ گرم در پنج گروه ٦ تایی به مدت ١٤ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه‌ها شامل کنترل، شاهد که حلال (آب مقطر) دریافت کردند و گروه‌های تجربی دریافت کننده دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره هیدروالکلی تاناستوم پارتنیوم به صورت درون صفاقی بودند. پس از آخرین تزریق، موش‌ها تشریح شده، نمونه خونی از قلب گرفته شد و میزان هورمون‌های تستوسترون، دی هیدرو تستوسترون، FSH وLH با روش ELISA اندازه-گیری شد. به منظور بررسی‌های آماری از تست ANOVA یکطرفه استفاده شد. سطوح سرمی تستوسترون، دی هیدروتستوسترون و هورمون‌های هیپوفیزی FSH و LH در بیشتر گروه‌های تجربی کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل نشان داد. عصاره هیدروالکلی بابونه گاوی سبب کاهش هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون می‌شود، لذا مصرف داز مدت آن باید با احتیاط صورت گیرد.

کلمات کلیدی: تاناستوم پارتنیوم، دی هیدرو تستوسترون، تستوسترون، گنادوتروپین، موش کوچک آزمایشگاهی

مقدمه

بابونه گاوی (*Tanacetum Parthenium*)، گیاهی از تیره کاسنی می‌باشد. یکی از گونه‌های دارویی است که اغلب در مناطق ۸۰۰ تا ۱۲۵۰ متری حاشیه جاده‌ها و رودخانه‌ها، مناطق باز جنگلی، لابه‌لای صخره‌های مناطق پرشیب و حتی داخل مزارع باز رویش دارند. این گونه گیاهی علفی، چندساله به طور مختصر کرکین پوش یا فاقد کرک است [۳]. از فرآورده‌های این گیاه در دفع اختلالات گوارشی استفاده می‌شود و در دفع قولنج با منشا عصبی، نفخ و ضعف اعصاب و بیماری‌های رحمی با منشا عصبی و یا ضعف عمل آن، ترشحات زنانگی و هیستری مفید است [۲]. از ترکیبات اولیه این گیاه می‌توان به پارتنولید، سیسکوترپن لاکتون، فلاونویدهای گلیکوزیدی مثل لوتئولین و اپی‌ژنین، کامفور و ترکیبات فیتواستروژنی اشاره کرد [۱۰، ۱۹]. از دیگر ترکیبات مهم موجود در عصاره، فیتو استرول‌ها می‌باشند. فیتواسترول‌ها و دیگر ترکیبات مشابه آنها موادی هستند که به طور طبیعی در گیاهان وجود دارند. فیتواسترول از گروه استرول‌ها می‌باشند که منشاء گیاهی داشته و از نظر ترکیبات ساختمانی بسیار شبیه به کلسترول هستند [۱۵].

در تحقیقی، تجویز خوراکی عصاره بابونه گاوی اثر ضددردی و ضدالتهابی در برابر اسید استیک ایجاد کرد.

تزریق درون صفاقی پارتنولید به عنوان جز فعال عصاره نیز اثرات ضددردی و ضدالتهابی ایجاد نمود [٤]. نتایج بدست آمده از تحقیقات در درمان میگرن نشان می‌دهد که *Tanacetum parthenium* بطور معنی‌داری موثر می‌باشد و مصرف آن به طور مشخص منجر به کاهش در تعداد حمله و کیفیت درد در افراد مبتلا به میگرن می‌شود و به عنوان گزینه‌ای برای پیشگیری از میگرن توصیه شده و عوارض جانبی مهمی دیده نشده است [٦].

مشخص شده است که فیتواستروژن‌ها می‌توانند بر روی سیستم اندوکرینی دستگاه تولیدمثلی اثر بگذارند و باعث کاهش باروری شوند [١١]. وجود ترکیبات شبه استروژنی مثل فلاونوییدهای این گیاه می‌تواند موجب افزایش سطح استروژن شود [٧].

با توجه به تحقیقات گذشته در زمینه‌های مختلف بر روی گیاه و با توجه به حضور ترکیبات فلاونوئیدی، فیتواسترولی و فیتواستروژنی موجود در گیاه، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره گیاه تاناستوم پارتنیوم بر هورمون‌های جنسی نر انجام شد.

مواد و روش کار

سرشاخه‌های گلدار و خشک شده گیاه را خرد و آسیاب کرده مقدار ٤٠ گرم از آن وزن شد و در ظرفی با ٢٥٠ سی سی الکل ٧٠ درجه مخلوط شد و بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت. پس از ٧٢ ساعت مخلوط از روی شیکر برداشته شده و توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن عصاره هیدروالکلی گیاه جدا و به یک بالن ته گرد منتقل و برای تغلیظ بر روی دستگاه روتاری قرار گرفته و درون انکوباتور به مدت ٣ الی ٤ روز قرار گرفت تا عصاره خشک به دست بیاید. در این تحقیق از موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI به وزن تقریبی ٤٥-٣٥ گرم استفاده شد.. موش‌ها در اتاق حیوانات و تحت شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت نگهداری شدند و در طی دوره نوری ١٢ ساعت تاریکی و ١٢ ساعت روشنایی قرار داشتند.

٣٠ سر موش سوری نر بالغ به طور تصادفی به ٥ گروه ٦ تایی تقسیم‌بندی شامل: گروه کنترل، شم (دریافت کننده آب مقطر به عنوان حلال عصاره)، گروه دریافت کننده دوز ٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره، گروه دریافت کننده دوز ١٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره و گروه دریافت کننده دوز ١٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره، تقسیم شدند.

دوزهای مختلف عصاره روزی یکبار به مدت ١٤ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد. یک روز پس از آخرین تزریق، موش‌ها ابتدا وزن شده و سپس با استفاده از اتر بیهوش شده و بلافاصله عمل خون گیری از قلب توسط سرنگ ٥ سی‌سی انجام شد. سپس عمل جداسازی سرم از نمونه های تهیه شده با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با دور ٢٥٠٠ به مدت ١٠ دقیقه انجام شد. سرم به داخل میکروتیوب منتقل شده و در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا بعدا برای اندازه‌گیری هورمون‌های جنسی استفاده شود.

سنجش هورمون‌های FSH و LH بر اساس روش ELISA و با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال و ارزیابی غلظت تستوسترون بر اساس سنجش ایمونولوژیکی آنزیمی رقابتی (EIA) و متد (ELISA) می‌باشد. داده‌ها به کمک آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون TUKEY تجریه و تحلیل شد. $P<0.05$ به عنوان مرز استنتاج آماری در نظر گرفته شد.

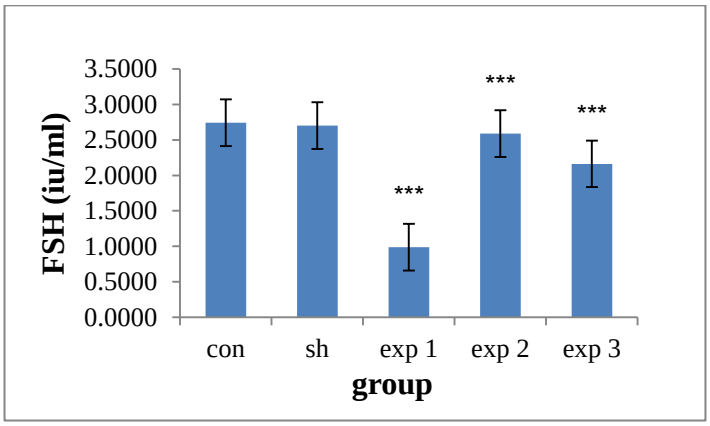
نتایج

بررسی میزان هورمون FSH: بر اساس نتایج به دست آمده، کاهش معنی‌داری در سطح این هورمون در کلیه گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ١).

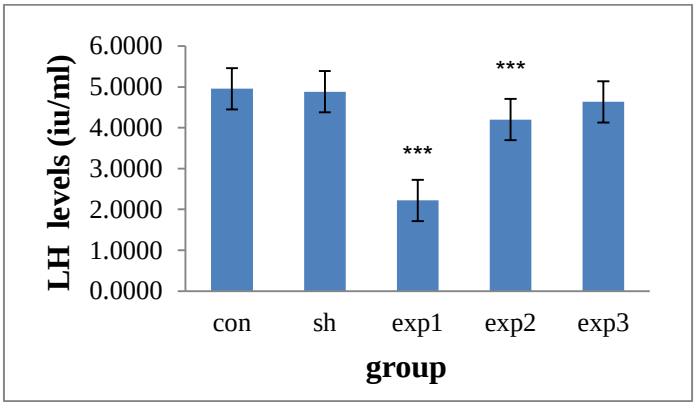
بررسی میزان هورمون LH: بر اساس نتایج به دست آمده، کاهش معنی‌داری در سطح این هورمون در گروه تجربی ۱ (تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه تجربی ۲ (تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۲).

بررسی میزان هورمون تستوسترون: بر اساس نتایج به دست آمده، کاهش معنی‌داری در سطح این هورمون در گروه تجربی ۱ (تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه تجربی ۲ (تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۳).

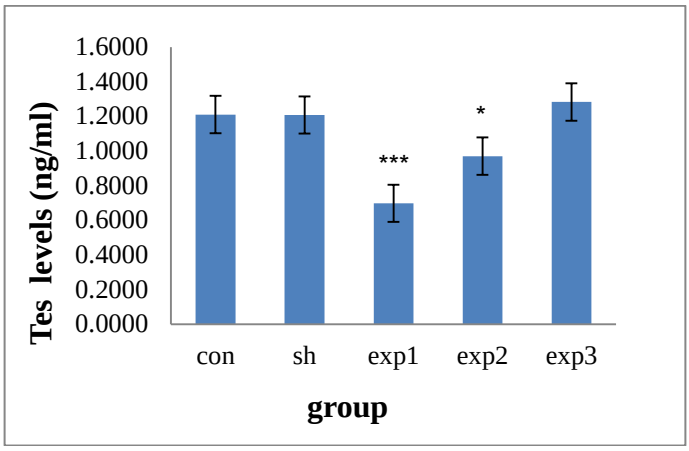
بررسی میزان هورمون دی هیدروتستوسترون: با بررسی نتایج به دست آمده، کاهش معنی‌داری در سطح این هورمون در گروه تجربی ۱ (تیمار با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه تجربی ۲ (تیمار با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ٤).



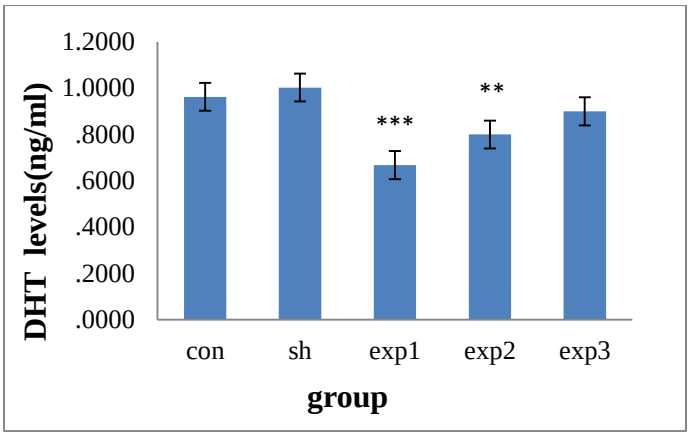
نمودار ۱ـ مقایسه میانگین غلظت هورمون FSH در گروه‌ها (P<0.001)



نمودار ۲ـ مقایسه میانگین غلظت هورمون LH در گروه‌ها (P<0.001)



نمودار ۳ـ مقایسه میانگین غلظت هورمون تستوسترون در گروه‌ها ($P<0.001$) و ($P<0.05$)



نمودار ٤ـ مقایسه میانگین غلظت هورمون دی هیدرو تستسترون در گروه‌ها ($P<0.001$) و ($P<0.01$)

بحث

در این تحقیق اثر عصاره هیدرو الکلی بابونه گاوی بر محور HPG در موش سوری نر بررسی شد. مهم‌ترین پارامترهایی که مورد بررسی قرار گرفت سطوح هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون خون در مقایسه با گروه شاهد است.

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهند که عصاره بابونه گاوی سبب کاهش معنی‌دار سطح هورمون‌های LH و FSH، تستوسترون و دی هیدروتستوسترون در گروه‌های تجربی شده است. در مورد کاهش هورمون‌های گنادوتروپ به نظر می‌رسد که این کاهش ناشی از یک اثر مهاری فیتواستروژن موجود در بابونه گاوی بر محور هیپوفیز-گناد باشد. مسیر اصلی در کنترل اعمال جنسی، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز- گناد است که این محور، تحت تاثیر مستقیم کنترل فیدبکی، موجب تنظیم اعمال جنسی در انسان و سایر پستانداران می‌گردد [۵].

در مطالعه دیگری مشخص شده است که محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلف قرار گرفته و تنظیم و تعادل آن دچار اختلال شود. یکی از این عوامل، فیتواستروژن‌ها هستند [۱]. مطالعات نشان داده که فیتواستروژن‌ها و ترکیبات مشابه از نظر

ساختاری می‌توانند از طریق عمل بر ضد استروژن، سلامت تولیدمثلی نرها را به مخاطره انداخته و به آن آسیب برسانند. برخی تحقیقات پیشنهاد نموده‌اند که سیستم عصبی مرکزی- گنادی و رفتار جنسی در موش‌های صحرایی در طی تکامل به فیتواستروژن‌ها حساس شده است [۲۰].

بررسی‌ها نشان داده است بابونه گاوی از طریق سیستم سروتونرژیک باعث کاهش درد می‌شود [۲٦]. این سیستم یکی از سیستم‌های محرک ترشح پرولاکتین است. پرولاکتین سبب مهار ترشح ضربانی GnRH و کاهش LH می‌شود [۸].

از دیگر ترکیبات مهم موجود در عصاره، فیتواسترول‌ها می‌باشند. Khan و همکاران در سال ۲۰۰٤ نشان دادند فیتواسترول‌ها به طور مستقیم باعث کاهش گنادوتروپین‌ها از جمله LH می‌شوند و اثر تعدیلی خود را بر آنها اعمال می‌کنند [۱۳].

بخش زیادی از تستوسترونی که در بافت‌ها مستقر می‌شود در سلول‌ها به دی هیدروتستوسترون (DHT) تبدیل می‌شود [۵]، لذا کاهش سطح تستوسترون بالطبع باعث کاهش هورمون دی‌هیدروتستوسترون می‌شود.

دی‌هیدروتستوسترون، یک استروئید جنسی و هورمون آندروژنی می‌باشد. آنزیم ۵ آلفا-ردوکتاز، DHT را در پروستات، بیضه‌ها، فولیکول‌های مو و غدد فوق کلیوی سنتز می‌کند. این هورمون در دوران جنینی نقش ضروری در شکل‌گیری دستگاه تناسلی خارجی مردان دارد، در حالیکه در بزرگسالی به عنوان آندروژن اولیه در پروستات و فولیکول‌های مو عمل می‌کند [۷].

این عصاره به علت داشتن فیتواسترول‌ها دارای اثر مهاری بر روی فعالیت آنزیم ۵ـ آلفا ردوکتاز می‌باشد. کاهش این آنزیم باعث کاهش غلظت پلاسمایی هورمون دی هیدروتستوسترون (شکل فعال تستوسترون در بافت‌ها) می‌شود. علاوه بر این فیتواسترول‌ها باعث کاهش حساسیت بافت‌ها به آندروژن‌ها و کاهش فعالیت آندروژن‌ها از جمله تستوسترون از طریق مهار آنزیم‌های آروماتاز و ۵- آلفا ردوکتاز می‌شوند [۱۳، ۲٤]. مطالعات نشان می‌دهد که فیتواسترول‌ها از طریق کاهش کلسترول باعث کاهش پیش‌سازهای سنتز تستوسترون می‌شوند [۱۷، ۲۳، ۲۵].

همچنین عصاره بابونه گاوی حاوی ترکیبات کافور می‌باشد، که مطالعات نشان می‌دهند ترکیبات ارگانیک از خانواده کافور موجود در عصاره باعث مهار فعالیت سیتوکروم P450 2B1 می‌شوند که برای عملکرد برخی از آنزیم-های دخیل در سنتز آندروژن‌ها از جمله دسمولاز و ۱۷ هیدروکسیلاز ضروری است. با کاهش فعالیت این سیتوکروم، فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافته و در نتیجه میزان سنتز تستوسترون کاهش می‌یابد [۱۸، ۲۲].

تحقیقات نشان می‌دهد که ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره ممکن است باعث افزایش بیان ژن تنظیم‌کننده حاد استروئید (STAR) گردند و یا با بلوک کانال‌های کلسیمی مانع بیان ژن STAR گردیده و کاهش تستوسترون را باعث شوند [۲۱]. حیوانات عمل آوری شده بافیتواستروژن‌ها دارای غلظت پایین‌تری از cAMP هستند که این مشاهده بطور قابل توجهی با کاهش استروئیدسازی همراه است [۱٦].

یکی از ترکیبات موجود در این گیاه فلاوون می‌باشد که دارای توانایی اتصال به گیرنده‌های هورمون‌های جنسی است و با افزایش حساسیت سیستم آدنیلات سیکلاز، تولید هورمون‌های جنسی را متوقف می‌کند [۹]. همچنین این گیاه سرشار از ماده‌ای به نام اپی ژنین می‌باشد که مهارکننده آنزیم‌هایی مثل آروماتاز، ۱۷- هیدروکسی استروئید دهیدروژناز، فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز و محرک تولید آنزیم‌های مرگ سلولی می‌باشد [۱۲، ۱٦و ۲۷] که احتمالاً بر روند تولید هورمون تستوسترون مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری

گیاه بابونه گاوی اگرچه دارای اثرات درمانی و مفیدی می-باشد اما طبق این پژوهش اثرات کاهشی بر میزان هورمون-های جنسی نر داشته و با توجه به اینکه این هورمون‌ها در فرآیند اسپرماتوژنز و در نتیجه باروری مردان نقش بسیار مهمی دارند، مصرف بی‌رویه‌ی آن می‌تواند اثرات منفی بر باروری مردان داشته باشد. لذا مصرف آن در مردان باید با احتیاط صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از گروه پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و همچنین از مسئولین محترم مجتمع آزمایشگاهی رازی واحد علوم و تحقیقات تهران تشکر و قدردانی می شود.

منابع

۱. اعتمادی، ر.، تیجری، ن. ۱۳۸۷. بررسی اثر عصاره الکلی گیاه شیرین بیان بر بافت بیضه رت، مجله ادراک، جلد ۳، شماره ۱۰، صفحات ۱۹-۲۵.

۲. زرگری، ع. ۱۳۷۸. گیاهان دارویی، چاپ چهارم، جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۶۰-۱۵۳.

۳. شفقت، ع. ۱۳۸۹. استخراج و تعیین ساختار شیمیایی چالکون و فلانوئیدهای موجود در گل‌های *Tanacetum parthenium* و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی آن، فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۶، شماره ۲، صفحات ۱۵۷-۱۶۷.

٤. فریدونی، م.، اعتمادی، ل.، بردک، ا. ۱۳۸۰. بررسی اثر ضد دردی گل و برگ بابونه (*Tanacetum parthenium*) به وسیله آزمون فرمالین بر روی موش سوری، فیزیولوژی و فارماکولوژی، سال پنجم، شماره دوم، صفحات ۲۰۰۹-۲۰۰۱.

۵. گایتون، آ. ۱۳۸۸. فیزیولوژی پزشکی، ترجمه فرخ شادان، جلد سوم، انتشارات چهر تهران.

۶. نعمتی کریمی، ح، رخشنده، ح، اسماعیلی، ح. ۱۳۸٦. اثر تاناستوم پارتینوم در درمان میگرن، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، جلد ۵۰، شماره ۹۷، صفحات ۳۳۳-۳۳۸.

7. Amory J.K., Anawalt B.D., Matsumoto A.M., Page S.T., Bremner W.J., Wang C., Swerdloff R.S., Clark R.V. (2008), The effect of 5alpha-reductase inhibition with dutasteride and finasteride on bone mineral density, serum lipoproteins, hemoglobin, prostate specific antigen and sexual function in healthy young men. *Journal of Urology*, 179(6): 2333–2338.

8. Arakiak K.Y., Taya K. (2000), Involvement of inhibin in the regulation of follicle – stimulating hormone Secretion in young adult male shiba goat. *Journal of Andrology*, 21: 528-562.

9. Dhandapani S., Subramanina V.R., Rajagopals S., Namasivayam N. (2002), Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on alloxan- induced diabetic rats. *Pharmacological Research*. 46(3): 251-255.

10. Hendricks H., Bos R., Woerdenbag H. (1996), The essential oil of *Tanacetum parthenium* (L.). *Flavor and Fragrance*, 11: 367-371.

11. Heidari M. (2009), Effects of endocrine disrupting on the reproductive system, www.arecinna.ac.ir/website/eme/pe/prog/jedt/aspxid=l23.

12. Jeong H.J., Shin Y.G., Kim I.H., Pezzuto J.M. (1994), Inhibition of aromatase activity by flavonoids. *Archives of Pharmacal Research,* 22(3): 309-312.

13. Khan U., Aslam M., Saeeds A. (2004), Effect of beta adrenergic antagonist on the production of testosterone by rat leydig cells. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 16: 26-28.

14. Le Bail J.C., Laroche T., Marre-Fournier F., Habrioux G. (1998), Aromatase and 17ß-hydroxysteroid dehydrogenase inhibition by flavonoids. *Cancer Letter*, 133(1): 101-106

15. Lagarda M.J., Garc-Llatas G., Farr R. (2006), Analysis of phytosterols in foods.

biological characterization of a novel anti-aromatase coumarine derivative, from the department of surgical research and division of informational science. *Journal of Biology*, 279: 48071-48087.

23. Sugano M., Morioka H., Ikeda I. (2001), A comparison of hypocholesterolemic activity of beta–sitosterol and beta–sitostanol in rat. *Journal of Nutrition*, 107(11): 2011-2019.

24. Sefidkon F., Dabiri M., Mohammad N. (2002), Analysis of the oil of Heracleum persicum L. (leaves and flowers). *Journal of Essential Oil Research*, 14(4): 295-302.

25. Shafiee Sarvestani M. (1998), Evaluation of palm pollen extract on testis histological changes and spermatogenesis in mice. Master's Thesis. Faculty of Science, Teacher Training University, 110-128.

26. Tyler V.E., Brady L.R., Robbers J.E. (1988), Pharmacognosy, 9th Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 472-475.

27. Wang I.K., Lin-Shiau S.Y., Lin J.K. (1999), Induction of apoptosis by apigenin andrelated flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukemia HL-60 cells. *European Journal of Cancer*, 35(10): 1517-1525.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41(5): 1486-1496.

16. Li W., Pandey A.K., Yin X., Chen J.J., Stocco D.M., Grammas P., Wang X. (2011), Effects of apigenin on steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory gene expression in mouse Leydig cells. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 22(3): 212-218.

17. Mikki M.S., Al–Taisan S.M., Abdul Aziz A. (2005), Isolation of the chemical constituents of the spathe of date palm life. *Science Journal*, 48: 244-298.

18. Mojab F., Nickavar B. (2003), Composition of the essential oil of the root of Heracleum persicum from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2(4): 245-247.

19. Nemerz G. (2005), Feverfew, US Pharmacist online. Available at:URL:http://www. US pharmacist.Com/.

20. Santti R., Makela S., Strauss L. (2000), Phytoestrogens: Potentioal endocrine disruptros in males. *Toxicology and Industrial Health*, 14(1-2): 223-237.

21.Spencer J.P.E. (2007), The interactions of flavonoids within neural signaling pathways. *Genes and Nutrition*, 2(3): 257-273.

22.Shiuam C., Michael C., Kimberly K., Dujin A, Yate-Ching Y. (2004), Biochemical and