Archive of SID

Veterinary Clinical Pathology, Vol.14, No. 53, Spring 2020

"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1879247.1244

Effects of *Chamaemelum nobile* hydro alcoholic extract on reproductive and behavioural parameters in male rats exposed to immobility stress

Neshat Gharamaleki, M.[1], Bagheri, Y.[2], Delashoub, M.[3], Rafie, H.[2], Bahrami, A.M.[4], Delkhosh, A.[5*]

1- Assistant Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Young Researchers and Elite Club, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
4- Associate Professor, Department of Pathobiology, Para Veterinary Faculty of Ilam, University of Ilam, Ilam, Iran.
5- D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
*Corresponding author's email: arefdelkhosh@yahoo.com
(Received: 2019/9/21 Accepted: 2020/5/10)

Abstract

Stress is a very important factor in causing disorders in the reproductive system. Considering the effects of *Anthemis nobilis* L. in traditional medicine as an effective treatment of certain diseases, the aim of this study was to evaluate the effect of hydro-alcoholic extract of *Anthemis nobilis* L. on reproductive and behavioural parameters in male rats exposed to immobility stress. Thirty male Wistar rats weighing 220±20 g were randomly divided into five groups including control without any stress and additive, control exposed to stress without additive (positive control) and treatment groups exposed to stress and receiving *Anthemis nobilis* L. extract in dosages of 50, 100 and 200mg/kg respectively. The extract was given to the rats with gavage and accompanied by immobility stress for 21 days. At the end of the study, anxiety was evaluated using elevated plus maze, also blood samples were collected for hormonal assay and the number of sperms were assessed. Obtained data were analyzed using one way ANOVA followed by Tukey post hoc test. Hydro-alcoholic extract of *Anthemis nobilis* L. significantly increased the number of sperms, testosterone, LH and FSH levels in comparison to the stress group (p<0.05). Also the findings of this research revealed that the extract led to significant increase in percentages of open arm entry and decrease in percentages of close arm entries in the elevated plus maze compared to the stress group (p<0.05). The results indicated that hydro alcoholic extract of *Anthemis nobilis* L. has anxiolytic effects and increases the reproductive parameters probably due to antioxidant components of this plant.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: *Anthemis nobilis* L, immobility stress, Sperm, Rat.

www.SID.ir

Archive of SID

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1879247.1244

تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه رومی (*Anthemis nobilis* L.) بر پارامترهای تولیدمثلی و رفتاری موش‌های صحرایی نر تحت استرس عدم تحرک

مهرداد نشاط قراملکی[۱]، یاسین باقری[۲]، مسعود دل‌آشوب[۳]، حسام رفیعی[۲]، علی‌محمد بهرامی[٤]، عارف دلخوش[۵*]

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

٤- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۵- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

نویسنده مسئول مکاتبات: arefdelkhosh@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۸/۶/۳۰ پذیرش نهایی: ۹۹/۲/۲۱)

چکیده

استرس عامل بسیار مهمی در ایجاد اختلالات در دستگاه تولیدمثل می‌باشد. با توجه به اثرات بابونه رومی (*Anthemis nobilis* L.) در طب سنتی بر برخی از بیماری‌ها، هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی بابونه رومی بر پارامترهای تولیدمثلی و رفتاری موش‌های صحرایی نر تحت استرس عدم تحرک بود. تعداد ۳۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی در پنج گروه شامل گروه‌های شم سالم، شاهد تحت استرس و سه گروه تیمار تحت استرس با دریافت دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره هیدرو الکلی بابونه رومی تقسیم و به مدت ۲۱ روز نگه‌داری شدند. در پایان دوره جهت سنجش میزان استرس از آزمون ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع استفاده شد. همچنین به منظور تعیین غلظت هورمون‌های تستوسترون، LH (luteinizing hormone) و FSH (follicle-stimulating hormone)، نمونه خون از همه موش‌ها اخذ شد. در ادامه نیز تعداد اسپرم‌های اپیدیدیمی بررسی گردید. نتایج به‌دست آمده با روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و هچنین آزمون مقایسه‌ای چندگانه توکی تحلیل گردید. عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه منجر به افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم و هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH نسبت به گروه شاهد استرس شد ($p<۰/۰۵$). همچنین عصاره مذکور سبب افزایش معنی‌دار درصد ورود به بازوی باز و کاهش درصد ورود به بازوی بسته ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع در مقایسه با گروه شاهد استرس گردید ($p<۰/۰۵$). در مطالعه حاضر عصاره هیدروالکلی بابونه رومی اثرات ضد اضطرابی داشته و موجب افزایش تعداد اسپرم، میزان تستوسترون، LH و FSH شد که احتمالاً این افزایش در ارتباط با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این گیاه می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: بابونه‌رومی، استرس عدم تحرک، اسپرم، موش‌صحرایی.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شرایط و شیوه زندگی، امروزه سبب شده‌است که بشر با استرس‌هاس مختلفی مواجه باشد. انواع گوناگونی از استرس‌های فیزیولوژیکی و روانشناختی بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- قشر فوق کلیوی، محور هیپوتالاموس- هیپوفیز-گنادی، سیستم سمپاتیک آدرنومدولاری و سیستم عصبی سمپاتیک اثر کرده و منجر به تغییراتی در برخی از اندام‌های بدن می‌شوند که از جمله سیستم‌های تاثیرپذیر، اندام‌های تولیدمثلی است و این تاثیرگذاری از طریق فعال شدن مجموعه‌ای از واکنش‌ها به صورت آبشاری انجام می‌گیرد (Ishida *et al.*, 2003). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد استرس با درجه شدت متفاوت باعث کاهش ترشح تستوسترون شده و ممکن است اسپرماتوژنز را در افراد مذکر تحت تاثیر قرار دهد (McGrady, 1984, Eskiocak *et al.*, 2006). مطالعات نشان داده‌است که استرس القاءشده در موش‌های صحرائی باردار بر تکامل و رفتارهای جنسی نوزادان مذکر موثر می‌باشد (McGrady, 1984). گزارشات مختلف نشان داده است که استرس بر فرایند اسپرماتوژنز اثر می‌گذارد و از این رو استرس یکی از عوامل تعیین‌کننده در ناباروری می‌باشد. همچنین قرار گرفتن در معرض استرس روانی- اجتماعی با افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب در پلاسمای مایع منی همراه است که در نهایت منجر به کاهش کیفیت اسپرم می‌شود، لذا احتمال کاهش باروری در این افراد بیشتر گزارش شده است (McCarty *et al.*, 2003; Saki *et al.*, 2009). غلظت بیش از حد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو، اثرات پاتولوژیکی را در دستگاه تناسلی مرد اعمال می‌کنند که مخرب اسپرم هستند و ارتباط منفی در غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم داشته و می‌توانند منجر به ضعف اسپرم و در نهایت ناباروری آن شوند. اگر چه رادیکال‌های آزاد برای عملکردهای مختلف فیزیولوژیک مهم هستند، اما مقادیر بیش از حد آن به استرس اکسیداتیو کمک می‌کند (Eskiocak *et al.*, 2006, Jeddi and Mohajeri, 2017). استرس‌های متنوع مزمن به‌صورت محرومیت غذایی، محرومیت آب، بی‌حرکتی و شنای اجباری تعریف می‌شود (Schreck *et al.*, 2001). از قوی‌ترین مدل‌های استرس، می‌توان به بی‌حرکتی اشاره کرد که نتیجه آن افزایش تعدادی از هورمون‌های بدن مانند هورمون‌های آدرنالین، نورآدرنالین و کورتیکواسترون می‌باشد. همچنین از جمله علایم مربوط به استرس مزمن بی‌حرکتی، استرس و افسردگی می‌باشد (McCarty *et al.*, 2003). میزان تغییرات فیزیولوژیک به‌دنبال تاثیر عوامل استرس‌زا به میزان، تناوب و طول مدت قرارگیری حیوان در آن موقعیت وابسته است. عوامل استرس‌زا بر حسب مرحله بلوغ، می‌توانند باعث تقویت یا تضعیف روند تولیدمثل شوند (Rai *et al.*, 2003). کاهش در تعداد اسپرماتوزوآ به دنبال استرس ناشی از عدم تحرک، کاهش در تعداد، تحرک و میزان لقاح اسپرماتوزوآ بعد از شنای اجباری در موش‌های صحرایی، افزایش در میزان آپوپتوز در لایه‌های زایا و کاهش تعداد اسپرماتوزوآ در موش‌ها و اسپرم‌زایی ناقص در موش‌ها به‌دنبال عوامل استرس‌زا مشاهده شده است (Vera *et al.*, 2005; Saki *et al.*, 2009). به‌دنبال تاثیر انواع متفاوتی از استرس‌های فیزیولوژیک و روان‌شناختی بر محور عصبی، تغییراتی در تعدادی از اعضاء و

www.SID.ir

Archive of SID

بافت‌های بدن ایجاد می‌شود (McDonald, 1996). در جانداران گوناگون، بی‌حرکتی به عنوان یک نوع استرس شناخته می‌شود و می‌تواند با اثر بر فیزیولوژی جانداران در زمینه‌های رشد و نمو و همچنین عملکرد هیپوفیز، هیپوتالاموس و انواع غدد باعث آزاد شدن هورمون‌هایی شود که در کل، هورمون‌های استرسی نامیده می‌شوند (Nemoto *et al*., 2010). طبق تحقیقات انجام‌شده این نوع استرس در بافت مغز باعث افزایش تولید نیتریک اکساید می‌گردد که این افزایش علاوه بر این‌که یک ژنوتوکسیک است، موجب سرکوب تولید تستوسترون و به طور متقابل، افزایش ترشح کورتیکواستروئیدها می‌شود (Weissman *et al*., 2007). تحقیقات نشان می‌دهد که استرس سبب آزاد سازی کورتیکواستروئیدها از بخش قشری آدرنال شده و از طریق اختلال در عملکرد هیپوکامپ باعث افسردگی می‌گردد (Salmon, 2007; Vallée *et al*., 2016). یکی از روش‌های مناسب جهت ارزیابی رفتارهای مرتبط با اضطراب در مدل های جانوری با اختلالات سیستم عصبی مرکزی، آزمون ماز مرتفع به‌علاوه شکل می‌باشد. دستگاه ماز مرتفع به‌علاوه شکل از یک ماز به شکل به‌علاوه تشکیل شده که در ارتفاعی بالاتر از کف زمین قرار دارد. این ماز دارای چهار بازو یک ناحیه مرکزی است که دو بازوی آن باز و دو بازوی دیگر بسته می‌باشد. حیوانات مضطرب ترجیح می‌دهند بیشتر در بازوهای بسته بمانند و زمان کمتری را به جستجو در بازوهای باز بپردازند (Walf and Frye, 2007).

بابونه رومی (*Anthemis nobilis* L.) گیاهی پایا به بلندی ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و بسیار معطر است. ساقه آن به رنگ سبز مایل به سفید بوده و برگ‌هایش پوشیده از کرک است. گل‌های آن به شکل مجتمع در یک طبقه، به‌طور منفرد در انتهای ساقه گل‌دهنده در تابستان ظاهر می‌شود. در گیاه بابونه رومی ترکیباتی نظیر تانن، اسانس‌های فرار و روغنی، فیتوسترول، گوگرد، ترپونوئیدها، فلاوونویدها، کروستین و آزولن وجود دارد (Al-Snafi, 2016). قسمت مورد استفاده این گیاه، گل‌آذین‌های آن است که در فاصله ماه‌های اردیبهشت تا مهر، آن را از ساقه جدا می‌کنند. بابونه از گیاهان بومی منطقه مدیترانه بوده ولی منشأ آن را در آسیای صغیر گزارش کرده‌اند. این گیاه امروزه پراکندگی وسیعی در اروپا، آسیای غربی، آفریقای شمالی، آمریکای شمالی و جنوبی و استرالیا پیدا کرده است (Rabiei *et al*., 2016). برای بابونه خواص زیادی ذکر کرده‌اند که شامل مدر، معرق، مقوی معده، اشتهاآور، التیام‌دهنده، ضدعفونی‌کننده، مسکن درد، ضد تب و نقرس، ضد تشنج، ضد التهاب، ضد اضطراب و ضد خارش می‌باشد. این گیاه در طب سنتی ایران به‌عنوان تسکین دهنده درد، تب و ضد اسپاسم مورد استفاده قرار می‌گیرد (Alibabaei *et al*., 2014; Al-Snafi, 2016). بابونه در تمام فارماکوپه‌های معتبر به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده و خواص درمانی گل‌های آن مورد بررسی قرار گرفته‌است. گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها امروزه ۲۰ درصد تجویزهای دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰ درصد در کشورهای درحال توسعه را به خود اختصاص می‌دهند (Ameri, 2013).

با توجه به نتایج تحقیقات پیشین، مشخص شده که گیاه بابونه رومی می‌تواند دارای اثرات مثبت در پارامترهای تولیدمثلی گردد (Al-Snafi, 2016) ولی تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی همزمان اثرات گیاه بابونه

www.SID.ir

Archive of SID

رومی در پارامترهای تولیدمثلی و رفتاری در موش‌های تحت استرس عدم تحرک صورت نگرفته است. به‌همین منظور هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه رومی بر تعداد اسپرم و میزان سرمی هورمون‌های تستوسترون، LH (luteinizing hormone)، FSH (follicle-stimulating hormone) و نیز خصوصیات رفتاری موش‌های صحرایی تحت استرس عدم تحرک بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی می‌باشد. برای انجام این مطالعه، تعداد ۳۰ سر موش صحرائی بالغ نژاد ویستار تهیه‌شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۷ با وزن متوسط ۲۰±۲۲۰ گرم به ۵ گروه ٦ تایی تقسیم و در طی مدت ۲۱ روز دوره آزمایش، حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و در دمای ۲±۲۳ درجه سلسیوس در مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز نگه‌داری و مورد آزمایش قرار گرفتند. منبع آب آشامیدنی حیوانات در تمام طول دوره آزمایش، آب لوله‌کشی شهری و تغذیه نیز به‌صورت غذای مخصوص موش بود. تمامی موازین اخلاق پژوهش برطبق دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی (Schneider, 2011) انجام گردید.

- تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه رومی: گیاه بابونه رومی به‌صورت تازه از شرکت تعاونی زرین گیاه ارومیه خریداری شده و پس از تأیید توسط مرکز هرباریوم و گیاه‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در سایه خشک و سپس آسیاب شده و از پودر حاصله به روش پرکولاسیون، در آزمایشگاه شیمی دانشگاه تبریز عصاره‌گیری شد. بدین منظور ۲۰۰ گرم از پودر مذکور با استفاده از ٦۰۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۷۰ درصد (Scharlau, Spain) در دستگاه پرکولاتور (IKA, Germany) خیس گردید و پس از ۷۲ ساعت انتظار، عمل عصاره‌گیری آغاز شد، به‌طوری‌که عصاره الکلی به صورت قطره قطره از پرکولاتور خارج شده و جمع‌آوری گردید. در نهایت حلال در خلأ تبخیر و عصاره مورد نظر در سطحی صاف و تمیز تهیه شد (Keshtmand, 2018).

-گروه‌های حیوانات مورد آزمایش: موش‌های مورد آزمایش به طور تصادفی به ۵ گروه ٦تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه اول: موش‌های شم سالم دریافت‌کننده فقط آب مقطر به‌صورت گاواژ.

گروه دوم: موش‌های شاهد تحت استرس عدم‌تحرک.

گروه سوم: موش‌های تحت استرس عدم‌تحرک و دریافت‌کننده عصاره بابونه رومی به‌صورت گاواژ به میزان ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن.

گروه چهارم: موش‌های تحت استرس عدم تحرک و دریافت‌کننده عصاره بابونه رومی به‌صورت گاواژ به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن.

گروه پنجم: موش‌های تحت استرس عدم تحرک و دریافت‌کننده عصاره بابونه رومی به‌صورت گاواژ به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن (Johnson *et al.*, 2017).

لازم به ذکر است که عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه رومی به روش گاواژ به‌صورت روزانه و یک

www.SID.ir

Archive of SID

ساعت قبل از القای استرس به مدت ۲۱ روز به موش‌های تحت تیمار داده شد.

- **روش القاء استرس عدم تحرک به موش‌ها:** برای ایجاد استرس از نوع محدودیت حرکتی، موش‌های صحرایی نر مورد آزمایش، در محدودکننده‌های پلاستیکی (آرا طب‌فن، ایران) مخصوص قرار گرفتند. این وضعیت به‌صورت روزی ۳ ساعت در زمان‌های تعیین‌شده (۹ صبح الی ۱۲ ظهر) به‌مدت ۲۱ روز انجام گرفت (Wood *et al*., 2003).

- **روش انجام آزمون رفتاری ماز به‌علاوه مرتفع:** در پایان دوره آزمایش، آزمون رفتاری ماز برای سنجش سطح اضطراب انجام‌شد. ماز به‌علاوه مرتفع از دو بازوی باز و دو بازوی بسته در مقابل هم (به طول ۵۰ سانتی‌متر و عرض ۱۰ سانتی‌متر) تشکیل شده‌است. بازوی بسته از دو طرف، توسط دیواره‌ای به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر احاطه شده‌است. ماز توسط پایه‌هایی به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از زمین فاصله داشت. از هر حیوان فقط یک بار جهت انجام آزمون مذکور، استفاده شد. در نهایت درصد تعداد ورود به بازوی باز، بازوی بسته و مرکز ماز مرتفع توسط موش‌های حاضر در مطالعه، به طول مدت پنج دقیقه مورد محاسبه قرار گرفت (Weissman *et al*., 2007).

در مطالعه حاضر، کلیه اعمال مربوط به القاء استرس عدم تحرک و نیز آزمون‌های رفتاری، در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفت.

- **نحوه سنجش میزان هورمون‌های مورد نظر:** یک روز بعد از آخرین روز دوره آزمایش، از موش‌های مورد نظر خون‌گیری به عمل آمد. در ادامه جهت جداسازی سرم، خون‌های اخذشده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (HETTICH, Germany) شدند. در نهایت میزان سرمی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH به روش الایزا و با استفاده از کیت‌های مخصوص موش‌های صحرایی (Diagnostics Biochem, Canada) و دستگاه الایزا ریدر (BioTek, USA) در آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز اندازه‌گیری شد.

- **نحوه شمارش تعداد اسپرم موش‌های مورد آزمایش:** یک روز پس از آخرین گاواژ، موش‌های مورد آزمایش درون دسیکاتور حاوی پنبه آغشته به اتر قرار گرفته و بیهوش شدند و سپس با باز کردن شکم، اپی‌دیدیم چپ هر موش، ضمن جداسازی از بیضه، به دقت از بدن خارج شد. در ادامه اپی‌دیدیم جدا شده، به یک پتری‌دیش حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM-F12 (Dulbecco`s Modification of Eagle`s Medium) (Sigma-Aldrich, USA) انتقال و به‌منظور خروج اسپرم به درون محیط کشت، به قطعات کوچکی برش‌داده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. شمارش اسپرم با استفاده از لام نئوبار (HBG, Germany) و به روش هموسیتومتری انجام گرفت و سپس تعداد اسپرم‌ها در میلی‌لیتر در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز محاسبه گردید. لازم به ذکر است که شمارش اسپرم‌ها بر اساس دستورالعمل ارائه‌شده از طرف سازمان بهداشت جهانی انجام گرفت (Wang *et al*., 2014).

- **تحلیل آماری داده‌ها:** داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین±انحراف معیار ارائه شده و برای تجزیه و

www.SID.ir

Archive of SID

تحلیل آن‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و به‌دنبال آن از آزمون‌های مقایسه‌ای چندگانه توکی برای مقایسه وجود اختلاف بین گروه‌ها استفاده گردید. همچنین مقدار$p<۰/۰۵$ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن اختلاف آماری بین گروه‌ها در نظر گرفته‌شد.

یافته‌ها

تعداد اسپرم و سطح سرمی هورمون های تستوسترون، LH و FSH در گروه‌های دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی در مقایسه با گروه شم کاهش معنی‌دار را نشان دادند ($p<۰/۰۵$)، درحالی‌که در گروه‌های تحت استرس بی‌حرکتی تیمارشده با عصاره هیدروالکلی بابونه رومی در مقایسه با گروه دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی افزایش معنی‌دار در تعداد اسپرم و سطح سرمی هورمون‌های تستوسترن، LH و FSH مشاهده گردید (جدول ۱) ($p<۰/۰۵$).

همچنین در گروه شاهد دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی در مقایسه با گروه شم درصد زمان حضور در بازوی بسته افزایش و درصد حضور در بازوی باز و ورود به مرکز کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). در گروه‌های استرس دریافت‌کننده عصاره با دوزهای مختلف به‌صورت معنی‌داری افزایش درصد حضور در بازوی باز و ورود به مرکز و کاهش درصد حضور در بازوی بسته در مقایسه با شاهد نشان داده شد (جدول ۲) ($p<۰/۰۵$).

جدول ۱- مقایسه تاثیر مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی بابونه رومی بر تعداد اسپرم و سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، لوتئینی‌کننده و محرک فولیکولی در گروه‌های مورد آزمایش (میانگین±انحراف معیار)

گروه‌ها	تعداد اسپرم ($\times۱۰^۶$)	تستوسترون (ng/ml)	LH (ng/ml)	FSH (ng/ml)
گروه شم	۶۲/۶۷ ±۳/۲۱	۲/۷۸ ±۰/۱۰	۲/۱۳ ±۰/۰۹	٤/۲۱ ±۰/۱۳
گروه شاهد	٤۸/٤۲ ±۳/۲۷*	۲/۱۳ ±۰/۱۱*	۱/۷۱ ±۰/۱۱*	۳/٤۷ ±۰/۱۲*
گروه استرس (دریافت‌کننده ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه رومی)	۵۱/۳۲ ±۲/۶۱*	۲/۲٤ ±۰/۱۰*#	۱/۸۳ ±۰/۱۰*	۳/۵۸ ±۰/۱۷*
گروه استرس (دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه رومی)	۵٤/۲۵ ±۳/۰۸*#	۲/٤۰ ±۰/۰۹*#	۱/۹۶ ±۰/۱۳*#	۳/۷۲ ±۰/۱۱*#
گروه استرس (دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه رومی)	۵۸/۱۱ ±۳/۱۶*#	۲/٦٤ ±۰/۱۳#	۲/۱۰ ±۰/۱۲#	٤/۱۲ ±۰/۱۲#

نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار با گروه شاهد ($p<۰/۰۵$).

* نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل($p<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه تاثیر مقادیر مختلف عصاره هیدروالکلی بابونه رومی بر میزان پارامترهای ماز به‌علاوه‌ای مرتفع (میانگین±انحراف معیار)

گروه‌ها	درصد ورود به بازوی باز ماز	درصد ورود به بازوی بسته ماز	درصد ورود به مرکز ماز
گروه شم	۳٤/۳±٦/٤	۳٦/٤±۲/٦	۲۹/۲±۳/٦
گروه شاهد	۲۳/٤±٥/۷*	٥٦/٤±۳/۸*	۲۰/۲±۳/۸*
گروه استرس (دریافت‌کننده ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه رومی)	۳۲/۳±۳/#۷	٥۱/٤±۳/#٥	۱٦/۲±٤/۷*#
گروه استرس (دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه رومی)	٤۳/٤±۸/٦*#	٤۱/٤±۲/#۲	۱٥/۲±۱/٥*#
گروه استرس (دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بابونه رومی)	٥٤/٥±٥/۸*#	۲۹/٤±۲/٤*#	۱٦/۲±۲/٥*#

نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار با گروه شاهد ($p<۰/۰٥$).

* نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل ($p<۰/۰٥$).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر تاثیر عصاره هیدروالکلی بابونه رومی بر پارامترهای تولیدمثلی و رفتاری در موش صحرایی تحت استرس بی‌تحرکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله از مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه مذکور بر پارامترهای تولیدمثلی و رفتاری در موش‌های تحت استرس تاثیر مثبتی را داشته است. در این مطالعه تعداد اسپرم و سطح سرمی هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH در گروه شاهد تحت استرس در مقایسه با گروه شم کاهش معنی‌داری را نشان‌داد (جدول ۱). شواهدی وجود دارد که بیان می‌کند گلوکوکورتیکوئیدها می‌توانند موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و اختلال در سیستم محافظ آنتی‌اکسیدانی می‌گردد و این نشان‌دهنده دخالت میانجی‌های اکسیداتیو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در سیستم عصبی مرکزی در پاسخ به استرس مزمن می‌باشد (Gonçalves *et al.*, 2008). مطالعات دیگر نشان داده است که آزادشدن رادیکال‌های آزاد می‌تواند سبب ایجاد آسیب در بافت بیضه و سلول‌های اسپرم در موش‌های تحت استرس گردد که با یافته‌های مطالعه حاضر (جدول ۱) هم‌سو می‌باشد (Mirilas *et al.*, 2010; La Rosa-Rodriguez *et al.*, 2013). استرس اکسیداتیو با تخریب اسپرم، می‌تواند سبب افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش پروکسیداسیون لیپیدها شود که این امر سبب تغییر شکل غیرطبیعی اسپرم‌ها می‌شود (Aydin *et al.*, 2013). مطالعات قبلی نشان می‌دهند که استرس‌های مختلف می‌توانند به تغییرات آپوپتوتیک در سلول‌ها منجر شوند (Safavi and Khayat Noori, 2013; Wan *et al.*, 2013)، درحالی‌که در تحقیق حاضر در گروه‌های تحت استرس که مقادیر مختلف عصاره هیدروالکی بابونه رومی را دریافت کردند افزایش تعداد اسپرم و افزایش سطح هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH نشان داده شد (جدول ۱). همچنین تحقیقات قبلی ثابت کرده است که هورمون تستوسترون به طور مستقیم با اثر بر سلول‌های سرتولی و ترشح مایع لوله‌ای و پروتئین‌های متعدد مانند

www.SID.ir

Archive of SID

ترانسفرین و فاکتور رشد، نقش مهمی در تغذیه سلول‌های جنسی و در نهایت اسپرماتوژنز دارد (Carlson, 2008). با توجه به نقش هورمون تستوسترون در اسپرم‌سازی، آشکار است که در صورت افزایش این هورمون، تعداد اسپرم‌ها نیز افزایش می‌یابد که نتایج مطالعه حاضر نیز موید افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های مذکور در موش‌های تحت استرس دریافت‌کننده عصاره بابونه رومی می‌باشد (جدول ۱). در این خصوص به نظر می‌رسد که یکی از مکانیسم‌های مربوط به اثر بابونه بر افزایش تعداد اسپرم، ممکن است ناشی از وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره آن باشد چرا که گیاه بابونه غنی از ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که ازجمله آن‌ها فلاوونوییدها، ترکیبات فتولیک، کروستین و آزولن می‌باشند که این مواد در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن موثر بوده و برخی از آن‌ها نیز به نگه‌داری اسپرم کمک کرده و بعضی هم باعث حذف رادیکال‌های آزاد و موجب بهبود پارامترهای اسپرم همچون تحرک و زنده‌مانی آن گردند (Al-Snafi, 2016; Daghigh Kia *et al*., 2017). در مطالعه انجام‌شده توسط آچاریا و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان داده شد که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش تعداد اسپرم‌ها شده، اما با تجویز مواد آنتی‌اکسیدانی تعداد کل اسپرم افزایش نشان داده است (Acharya *et al*., 2008). از طرف دیگر، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه باعث افزایش ورود موش صحرایی به بازوی باز ماز شده و در نتیجه باعث کاهش استرس می‌شود (جدول ۲). در این ارتباط، مطالعه‌ای نشان داده است که بابونه در سیستم‌های دخیل در اضطراب مانند سیستم گابا اثر گذاشته و ممکن است مشابه اثر آگونیست بنزودیازپین عمل کند (Yamada *et al*., 1996). پژوهش‌های دیگری هم نشان داده‌اند که اثرات آرام‌بخشی این گیاه، به اجزای شبه بنزودیازپینی آن مربوط بوده و همانند اپی‌ژنین موجود در بابونه، حاوی لیگاندهایی برای گیرنده‌های بنزودیازپینی است (Wolfman *et al*., 1994; Zanoli *et al*., 2000).

با توجه به کاربردهای دارویی گیاه بابونه در طب سنتی و نیز نتایج مطالعات مختلف که در خصوص اثرات درمانی این گیاه در سیستم اعصاب مرکزی انجام شده است و همچنین یافته‌های حاصله از مطالعه حاضر که تاثیرات ضد استرسی و ضد اضطرابی گیاه بابونه را در موش‌های نر بالغ تحت استرس بی‌تحرکی مزمن نشان داده است، احتمالاً بتوان استفاده از این گیاه را برای درمان و یا پیشگیری از استرس و بروز علائم آن به‌ویژه اختلال در سیستم تولیدمثل پیشنهاد داد، هرچند که این مهم نیازمند مطالعات دقیق‌تر می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کارشناسان آزمایشگاه‌های کلینیکال پاتولوژی و فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز که در انجام این مطالعه ما را صمیمانه یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین لازم به ذکر است که تمامی هزینه‌های این مطالعه برعهده نویسنده مسئول و همکاران آن بوده‌است.

تعارض منافع

www.SID.ir

Archive of SID

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Acharya, U.R., Mishra, M., Patro, J. and Panda, M.K. (2008). Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium. Reproductive Toxicology, 25(1): 84-88.
- Al-snafi, A.E. (2016). Medical importance of Anthemis nobilis (Chamaemelum nobile)-a review. Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 6(2): 89-95.
- Alibabaei, Z., Rabiei, Z., Rahnama, S., Mokhtari, S. and Rafieian-Kopaei, M. (2014). Matricaria chamomilla extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. Biomedicine and Aging Pathology, 4(4): 355-360.
- Ameri, F. (2013). The relevance of medicinal plants consumers in Iran: investigating statistics for consumers, states of consumption, informative and source area. Journal of Medicine and Cultivation, 22(3): 37-42.
- Aydin, Y., Ozatik, O., Hassa, H., Ulusoy, D., Ogut, S. and Sahin, F. (2013). Relationship between oxidative stress and clinical pregnancy in assisted reproductive technology treatment cycles. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 30(6): 765-772.
- Daghigh Kia, H., Sadeghi Sadegh Abad, F., Ebrahimi, M. and Samadian, F. (2017). Comparative effect of different concentrations of hydro-ethanolic extract of chamomile on freeze-thawn semen quality of rams. Veterinary Clinical Pathology, 11(1): 13-23. [In Persian]
- Eskiocak, S., Gozen, A., Taskiran, A., Kilic, A., Eskiocak, M. and Gulen, S. (2006). Effect of psychological stress on the L-arginine-nitric oxide pathway and semen quality. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 39(5): 581-588.
- Gonçalves, L., Dafre, A.L., Carobrez, S.G. and Gasparotto, O.C. (2008). A temporal analysis of the relationships between social stress, humoral immune response and glutathione-related antioxidant defenses. Behavioural Brain Research, 192(2): 226-231.
- Ishida, H., Mitsui, K., Nukaya, H., Matsumoto, K. and Tsuji, K. (2003). Study of active substances involved in skin dysfunction induced by crowding stress. I. Effect of crowding and isolation on some physiological variables, skin function and skin blood perfusion in hairless mice. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 26(2): 170-181.
- Jeddi, H. and Mohajeri, D. (2017). Study on the effects of ethanolic extract of broccoli on oxidative stress induced by acetaminophen in rat kidney. Veterinary Clinical Pathology, 11(2): 145-157. [In Persian]
- Johnson, Jr.W., Heldreth, B., Bergfeld, W.F., Belsito, D.V., Hill, R.A., Klaassen, C.D., *et al*. (2017). Safety Assessment of Anthemis nobilis–Derived Ingredients as Used in Cosmetics. International Journal of Toxicology, 36(1): 57-66.
- Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A.A., Ozanci, C.C., Ghafari-Novin, M., *et al*. (2009). The effects of Ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat. Iranian Journal of Reproductive Medicine, 7(1): 7-12.
- La Rosa-Rodriguez, E., Le Clesiau, H., Dubois, G., Izard, J.L., Bonin, M., Bordron, J., *et al*. (2013). Assessment of work-related stress following implementation of preventive measures in a pension fund. Sante Publique, 25(1): 59-67.
- Mccarty, R., Aguilera, G., Sabban, E.L. and Kvetnansky, R. (2003). Stress: neural, endocrine and molecular studies. 2th ed., USA: New York, pp: 50-57.

www.SID.ir

Archive of SID

- Mcdonald, D., Bowden, J.J., Baluk, P. and Bunnett, N.W. (1996). Neurogenic inflammation. A model for studying efferent actions of sensory nerves. Advances in Experimental Medicine and Biology, 410(1): 453-462.
- Mcgrady, A. (1984). Effects of psychological stress on male reproduction: a review. Archives of Andrology, 13(1): 1-7.
- Mirilas, P., Panayiotides, I., Mentessidou, A., Mavrogenis, G., Kontis, E., Lainas, P., *et al*. (2010). Effect of testis nondescent or orchidopexy on antisperm antibodies and testis histology in rats. Fertility and Sterility, 94(4): 1504-1509.
- Nemoto, T., Iwasaki-Sekino, A., Yamauchi, N. and Shibasaki, T. (2010). Role of urocortin 2 secreted by the pituitary in the stress-induced suppression of luteinizing hormone secretion in rats. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 299(4): 567-575.
- Rabiei, Z., Lorigooini, Z. and Rafieian-Kopaei, M. (2016). Effects of hydroalcoholic extract of Borago officinalis on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent mice. Bangladesh Journal of Pharmacology, 11(4): 824-829.
- Rai, J., Pandey, S.N. and Srivastava, R.K. (2003). Effect of immobilization stress on spermatogenesis of albino rats. Journal of the Anatomical Society of India, 52(1): 55-57.
- Saki, G., Rahim, F. and Alizadeh, K. (2009). Effect of forced swimming stress on count, motility and fertilization capacity of the sperm in adult rats. Journal of Human Reproductive Sciences, 2(2): 72-89.
- Safavi, E and Khayat Noori, H. (2013). Histologic and histomorphometric study of epididymis after immobilization stress in mice. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 7(3): 193-206. [In Persian]
- Salmon, E. (2007). A review of the literature on neuroimaging of serotoninergic function in Alzheimer's disease and related disorders. Journal of Neural Transmission, 114(9): 1179-1186.
- Schreck, C.B., Contreras-Sanchez, W. and Fitzpatrick, M.S. (2001). Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture, 1(7): 3-24.
- Schneider, B.J. (2001). A study in animal ethics in New Brunswick. Canadian Veterinary Journal, 42(7): 540-547.
- Vallée, N., Lambrechts, K., De Maistre, S., Royal, P., Mazella, J., Borsotto, M., *et al*. (2016). Fluoxetine protection in decompression sickness in mice is enhanced by blocking TREK-1 potassium channel with the "spadin" antidepressant. Frontiers in Physiology, 7(1): 42.
- Vera, Y., Rodriguez, S., Castanares, M., Lue, Y., Atienza, V., Wang, C., *et al*. (2005). Functional role of caspases in heat-induced testicular germ cell apoptosis. Biology of Reproduction, 72(1): 516-522.
- Walf, A.A. and Frye, C.A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. Nature Protocols, 2(2): 322-328.
- Wan, H.T., Mruk, D.D., Wong, C.K. and Cheng, C.Y. (2013). Targeting testis-specific proteins to inhibit spermatogenesis: lesson from endocrine disrupting chemicals. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 17(7): 839-855.
- Wang, Y., Yang, J., Jia, Y., Xiong, C., Meng, T., Guan, H., *et al.* (2014). Variability in the morphologic assessment of human sperm: use of the strict criteria recommended by the World Health Organization in 2010. Fertility and Sterility, 101(4): 945-949.
- Weissman, B.A., Sottas, C.M., Zhou, P., Iadecola, C. and Hardy, M.P. (2007). Testosterone production in mice lacking inducible nitric oxide synthase expression is sensitive to restraint stress. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 292(2): 615-620.

www.SID.ir

Archive of SID

- Wolfman, C., Viola, H., Paladini, A., Dajas, F. and Medina, J.H. (1994). Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from Passiflora coerulea. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 47(1): 1-4.
- Wood, G.E., Young, L.T., Reagan, L.P. and McEwen, B.S. (2003). Acute and chronic restraint stress alter the incidence of social conflict in male rats. Hormones and Behavior, 43(1): 205-213.
- Yamada, K., Miura, T., Mimaki, Y. and Sashida, Y. (1996). Effect of inhalation of chamomile oil vapour on plasma ACTH level in ovariectomized-rat under restriction stress. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 19(1): 1244-1246.
- Keshtmand, Z. (2018). Protective effects of Tribulus terrestris hydroalcoholic extract against Cisplatin-induced germ cell apoptosis in male Mice. International Journal of Morphology, 36(1): 140-145.
- Zanoli, P., Avallone, R. and Baraldi, M. (2000). Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. Fitoterapia, 71(1): 117-123.

www.SID.ir