

Effects of Chamomile Hydro-Alcoholic Extract (*Matricaria chamomilla*) on the Aborted Fetuses, Serum Sex Hormones and Ovarian Follicles in Adult Female Rats

Mirzakhani Z¹, Hosseini SE^{1*}

1. Department of Biology, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +987143311148, Fax: +987143311172, E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com

Received: Aug 25, 2016 Accepted: Feb 04, 2017

ABSTRACT

Background & Objective: Nowadays, female infertility and abortion is considered one of the most important issues in the medical world. Due to high consumption of chamomile as a medicinal herb, this study aimed to investigate the effects of chamomile consumption on abortion, estrogen, progesterone, FSH, LH hormones and ovarian follicles in adult female rats.

Methods: In this experimental study, 80 adult female rats were divided to 2 categories in 5 groups of 8 pregnant and non-pregnant rats, including control groups, sham group and groups receiving intraperitoneal doses of 30, 60 and 120 mg/kg chamomile hydro-alcoholic extract. At the end of the day 16 of pregnancy, aborted fetuses in pregnant groups were counted, and in day 21, the number of follicles and corpora-lutea in non-pregnant groups was obtained by separating ovaries, and sexual hormone levels were measured after phlebotomizing the samples. The results were analyzed by SPSS software (Ver.18) using ANOVA and Tukey tests. Significant difference of data was set at $p < 0.05$.

Results: The results of this study showed that chamomile caused a significant increase in the number of aborted fetuses and follicle atresia and a significant decrease ($p < 0.05$) in serum level of estrogen, progesterone, FSH and LH hormones as well as the number of pre-antral follicle, antral follicles, graph and corpora-lutea.

Conclusion: The results showed chamomile extract decreased LH and FSH, thereby decreasing ovarian follicles, sexual hormones and aborted fetuses.

Keywords: Chamomile; Estrogen, Progesterone; Follicle Stimulating Hormone; Luteinizing hormone.

اثر عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) بر میزان سرمی هورمون‌های جنسی، فولیکول‌های تخمدانی و جنین‌های سقط شده در موش‌های صحرایی ماده بالغ

زهرا میرزاخانی^۱، سید ابراهیم حسینی^{۱*}

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۷۱۴۳۳۱۱۱۴۸، فاکس: ۰۷۱۴۳۳۱۱۱۷۲، پست الکترونیک: ebrahim.hossini@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: ناباروری زنان و سقط جنین یکی از مسائل مهم امروز در جهان پزشکی است. با توجه به مصرف زیاد بابونه به عنوان گیاهی دارویی، این مطالعه با هدف بررسی اثر مصرف بابونه بر میزان سقط جنین و به‌هورمون‌های استروژن، پروژسترون، FSH، LH و فولیکول‌های تخمدانی در موش‌های صحرایی ماده بالغ انجام گردید.

روش کار: این مطالعه تجربی بر روی ۸۰ موش ماده بالغ که به ۲ دسته ۵ گروهی ۸ تایی بارداری و غیرباردار شامل گروه‌های کنترل، شم و دریافت کننده درون صفاقی دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ mg/kg عصاره هیدروالکلی بابونه تقسیم شدند، انجام گرفت. در پایان روز ۱۶ بارداری در گروه‌های بارداری اقدام به شمارش جنین‌های سقط شده و در روز ۲۱ ام در گروه‌های غیرباردار، پس از خون‌گیری از نمونه‌ها، میزان هورمون‌های جنسی و با جداسازی تخمدان‌ها تعداد فولیکول‌ها و اجسام زرد، شمارش و نتایج با نرم افزار SPSS-18 و استفاده از آزمون‌های ANOVA و توکی آنالیز گردیدند. معناداری اختلاف داده‌ها در سطح $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بابونه باعث افزایش معنادار تعداد جنین‌های سقط شده، فولیکول‌های آترتیک و کاهش معنادار ($p < 0/05$) در میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون، FSH و LH و در تعداد فولیکول‌های پره آنترال، آنترال، گراف و اجسام زرد می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره بابونه باعث کاهش LH و FSH می‌شود و احتمالاً از این طریق منجر به کاهش فولیکول‌های تخمدانی و هورمون‌های جنسی و افزایش فولیکول‌های آترتیک و جنین‌های سقط شده گردیده است.

واژه‌های کلیدی: بابونه، استروژن، پروژسترون، LH، FSH

دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۰۴ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۶

مقدمه

آرزوی هر انسانی داشتن فرزندان سالم می‌باشد اما ۱۰ تا ۱۵ درصد از زوجین از نداشتن فرزند و ناباروری رنج می‌برند و ناباروری یکی از مسائل مهم پزشکی در جهان امروز به حساب می‌آید. ناباروری یا عدم ایجاد بارداری در یک زوج بعد از یک‌سال نزدیکی بدون استفاده از روش‌های پیش‌گیری از بارداری است که در ۵۰ درصد از موارد ناباروری

زوجین، نازایی زنان مطرح است [۱]. نوروهای ترشح‌کننده هورمون محرک ترشح گونادوتروپین‌ها در هیپوتالاموس از طریق تحریک ترشح پالسی گونادوتروپین‌های هیپوفیزی و با تحریک رشد فولیکول‌های تخمدانی و تخمک‌گذاری و همچنین تحریک تولید و ترشح هورمون‌های جنسی سیستم تولید مثلی را کنترل می‌نمایند [۲]. هورمون‌های جنسی از دسته هورمون‌های

استروئیدی هستند که تماماً در میتوکندری از تبدیل کلسترول به پرگنه نولون تولید می‌شوند. در اصل این ماده در سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های تخمدانی به استروژن و در سلول‌های جسم زرد به پروژسترون تبدیل می‌گردد [۳]. در زنان بالغ عملکرد استروژن و پروژسترون، تنظیم سیکل قاعدگی، تنظیم بارداری، شیردهی و میل جنسی، آماده‌سازی رحم جهت لانه‌گزینی در زمان لقاح، حفظ دیواره رحم در طول بارداری و تحریک و توسعه غدد پستانی می‌باشد [۴]. گیاه بابونه با نام علمی *Matricaria chamomilla* گیاهی از تیره کاسنی است و عصاره آن حاوی ترکیبات فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانت‌هایی نظیر اسید گالیک، کامازلن، فارنزن، ماتریسین، مشتقات کومارین، اپی ژنین و کولین می‌باشد که دارای خاصیت ضد التهابی می‌باشند [۵، ۶]. مطالعات نشان داده‌اند گیاه بابونه به عنوان یک داروی گیاهی است که دارای ارزش‌های کلینیکی زیادی در طب سنتی و نوین می‌باشد [۷، ۸]. نتایج یک مطالعه نشان داد که مصرف عصاره بابونه باعث کاهش میزان خونریزی عادت ماهیانه در زنان می‌گردد [۹]. نشان داده شده است که مصرف عصاره بابونه همانند داروی مغنامیک اسید باعث بهبود علائم و دردهای سندروم قبل از قاعدگی می‌گردد [۱۰]. در یک بررسی دیگر نشان داده شد که مصرف کپسول بابونه می‌تواند شدت دیسمنوره اولیه را به طور موثری کاهش دهد [۱۱]. در یک بررسی دیگر نشان داده شد که بابونه بر بهبود سه علامت درد شکم و لگن و همچنین افسردگی و عصبانیت سندروم پیش از قاعدگی و دیسمنوره دارای تاثیر است [۱۲].

نشان داده شده است که در موش‌های ماده فاقد غدد جنسی عصاره گیاه بابونه و استرادیول از طریق سیستم مشترک برخی از شاخص‌های حرکتی را در موش‌های ماده فاقد غدد جنسی افزایش داده و اثر یکدیگر را تعدیل و یا تقویت می‌نمایند [۱۳]. عصاره

بابونه به صورت وابسته به جنس دارای اثرات ضد اضطرابی است و احتمالاً وجود ترکیبات فیتواستروژنی موجود در آن مسئول این اختلاف اثر در دو جنس نر و ماده می‌باشد [۱۴]. نتایج یک مطالعه نشان داد که بابونه و سلنیوم که هر دو دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان می‌باشند باعث بهبود علائم افسردگی پس از زایمان القاء شده با هورمون پروژسترون می‌شود [۱۵]. نشان داده شده است که استفاده از عصاره گل بابونه تا حدودی قادر به بهبود علائم تخمدان پلی‌کیستک و تقویت دیواره آندومتر رحم می‌شود [۱۶]. نتایج یک مطالعه نشان داد که کپسول‌های خوراکی بابونه در مقایسه با زنجبیل و پلاسبو در کاهش علائم تهوع و استفراغ ناشی از بارداری موثرتر است [۱۷]. یافته‌های حاصل از یک تحقیق نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی گیاه بابونه باعث اختلال در سیر طبیعی افزایش وزن موش‌های باردار دریافت‌کننده و کاهش وزن رحم و جنین‌های آنها می‌گردد [۱۸]. نشان داده شده است که اثر ضد دردی بابونه وابسته به جنس و در موش‌های نر بیشتر از ماده می‌باشد و افزایش اثر ضد دردی بابونه کنار تاموکسیفن احتمالاً ناشی از تداخل اثر گیرنده‌های استروژنی با اثر ضد دردی بابونه می‌باشد [۱۹].

با توجه به آن که بر اساس نتایج مطالعات مختلف نشان داده شده است که بسیاری از زنان بدون توجه به تاثیرات سقط‌آور و ناهنجاری‌زایی بیشتر گیاهان دارویی و در جهت درمان مشکلات مختلفی نظیر دیسمنوره، اختلالات قاعدگی، کاهش عوارض منوپوز و اختلالات خلقی به استفاده از این گیاهان می‌پردازند [۲۰، ۲۱] و با عنایت به آن که تاکنون مطالعه علمی چندانی در زمینه اثرات گیاه بابونه بر عملکرد محور هیپوفیز- گوناد و نقش آن در سقط جنین صورت نگرفته است؛ لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره بابونه بر میزان سرمی هورمون‌های جنسی، فولیکول‌های تخمدانی در موش‌های صحرایی ماده

بالغ و بر میزان سقط جنین در موش‌های باردار انجام گرفت.

روش کار

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. در این پژوهش از ۸۰ سر موش صحرایی ماده بالغ و باکره از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۵ تا ۱۹۰ گرم و سن ۹۵ تا ۱۰۰ روز که به ۲ گروه بارداری و غیرباردار تقسیم گردیدند استفاده شد. در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بوده و در یک اتاق مخصوص در دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و آب و غذا به میزان کافی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. در این بررسی پس از هم‌سیکل نمودن موش‌ها، نمونه‌ها به ۱۰ گروه ۸ تایی شامل گروه‌های کنترل بارداری و غیرباردار، شم بارداری و غیر بارداری و سه دسته تجربی بارداری و سه دسته تجربی غیر بارداری دریافت کننده دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه تقسیم شدند [۲۲]. در این مطالعه گروه‌های کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و گروه‌های شم نیز تحت تیمار روزانه ۰/۵ میلی‌لیتر آب و الکل به عنوان حلال دارو قرار گرفتند. کلیه تجویزها به صورت روزانه و در موش‌های غیر باردار برای مدت ۲۱ روز و ۱۶ برای موش‌های باردار و به صورت درون صفاقی انجام گرفت. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاه تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در این مطالعه برای تهیه عصاره الکی بابونه، از روش پرکولاسیون جهت عصاره‌گیری استفاده گردید. برای این کار به مقدار کافی از گیاه از نواحی اطراف شیراز جمع‌آوری شد و بعد از شناسایی و تایید آن توسط بخش گیاه‌شناسی دانشگاه شیراز و دریافت شماره هرباریوم ۱۲۷۴۵۶ و

پس از خشک نمودن با استفاده از دستگاه آسیاب برقی پودر گردید، آنگاه به مقدار کافی از پودر حاصل را در ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ حل نموده و مخلوط به دست آمده ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید تا کاملاً خیسانده شود و آن گاه به کمک دستگاه هم‌زن برقی به خوبی هم زده شد تا به حالت یکنواخت درآید و سپس مخلوط به دست آمده را به وسیله فیلتر صاف نموده و به کمک دستگاه روتاری مخلوط حاصل تغلیظ گردید و با دستگاه دسیکاتور تمام رطوبت مخلوط گرفته شد و عصاره ای با ویسکوزیته بالا به دست آمد.

در این پژوهش جهت هم‌سیکل نمودن موش‌ها، ابتدا ۱۰۰ میکروگرم استرادیول والرات را در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن زیتون حل نموده و سپس به صورت عضلانی و با سرنگ انسولین تزریق گردید. پس از گذشت ۴۲ ساعت ۵۰ میکروگرم پروژسترون به صورت عضلانی تزریق گردید [۲۳]. مشاهدات میکروسکوپی نشان دهنده این مساله بود که همه موش‌ها در مرحله استروس هم‌سیکل شدند. سپس برای باردار نمودن موش‌های گروه‌های باردار، هر ۶ موش ماده را با یک موش نر هم‌قفس نموده تا جفت‌گیری نمایند و در صورت مشاهده پلاک واژنی روز صفر حاملگی تعیین گردید و آن گاه موش‌های نر را از ماده‌ها جدا نموده و هر ۸ موش ماده در یک گروه قرار گرفتند. تجویزها در روز اول بارداری آغاز و تا روز ۱۶ حاملگی ادامه یافت و سپس در یک روز بعد از آخرین تجویز، پس از بی‌هوش نمودن موشها و تشریح آنها اقدام به خارج نمودن رحم آنها گردید و تعداد و محل جفت‌ها شمارش گردید و با تعداد جنین‌های موجود در رحم مقایسه شد تا تعداد سقط مشخص گردد [۲۴]. در نمونه‌های غیر باردار نیز تجویزها برای مدت روز ۲۱ انجام گردید و در یک روز بعد از آخرین تجویز، حیوانات با اثر بی‌هوش و با کمک سرنگ انسولینی از قلب آنها خونگیری به

دارای یک خط آزاد (نقطه چین) و یک خط ممنوعه (پر رنگ) می‌باشد. برای شمارش، تعداد اوسیت‌های فولیکول‌ها مبنای شمارش قرار گرفت و اوسیت‌هایی شمارش گردیدند که اولاً با خط ممنوعه برخورد نداشته باشند ثانیاً در تصویر مقطع شاهد هم مشاهده نشوند. بر این اساس تعداد فولیکول‌ها شمارش گردید و با استفاده از فرمول زیر تعداد فولیکول‌های تخمدانی محاسبه گردید و با ضرب نمودن تعداد فولیکول‌ها در حجم مرجع، تعداد کل فولیکول‌ها بدست آمد [۱۹].

$$N = N_v \times V_{(Ref)}$$

که در آن N تعداد کل، N_v تعداد اجزا در واحد حجم، $V_{(Ref)}$ حجم کل بافت (نمونه) که نتیجه استفاده از روش کوالیری است.

$$V = \sum_{i=1}^m P \times a(P) X_i$$

که در آن V حجم، $\sum P$ مجموع نقاط برخورد کرده با قسمت مورد نظر، $a(P)$ مساحت اطراف هر نقطه، t ضخامت برش‌ها و $a(P) X_i$ حجم متعلق به فضای اطراف یک نقطه تقاطعی می‌باشد و سپس نتایج با کمک نرم افزار آماری SPSS-18 و با استفاده از آزمون‌های تجزیه واریانس یک طرفه و تی برای مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و معناداری اختلاف داده‌ها در سطح $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مصرف عصاره بابونه در موش‌های غیرباردار باعث کاهش معنادار در میزان سرمی هورمون‌های LH و FSH، استروژن و پروژسترون در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل می‌گردد (جدول ۱). همچنین نتایج حاصل از شمارش فولیکول‌های تخمدانی و اجسام زرد نشان داد که مصرف عصاره بابونه در دوزهای 120 mg/kg و 60 باعث کاهش معنادار در تعداد

عمل آمد. نمونه‌های خونی به مدت ۵ دقیقه در دور 3000 سانتریفیوژ گردیدند و تا قبل از سنجش میزان هورمون‌ها در دمای 20^- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان هورمون‌های LH، FSH به روش الیزا و استروژن و پروژسترون با روش رادیوایمونواسی و با استفاده از دستگاه الیزا ریدر مدل Eliza Reader Hiperion NP4 plus اندازه‌گیری گردیدند. کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری هورمون‌های LH، FSH با مارک Cusabio ساخت آمریکا و برای هورمون‌های استروژن و پروژسترون با مارک IBL, GmbH ساخت آلمان تهیه گردید. همچنین به منظور بررسی میانگین تعداد فولیکول‌های تخمدانی نیز پس از جدا سازی تخمدان‌ها، جهت تهیه مقاطع بافتی به ترتیب مراحل آب‌گیری توسط اتانول، شفاف‌سازی با الکل گزیلول و قالب‌گیری انجام گردید و سپس با کمک دستگاه میکروتوم دوار (LEIYZ) استرالیا مدل (۱۵۱۲) مقاطع بافتی با ضخامت 5 میکرونی تهیه و سپس مقاطع تهیه شده بر روی لام آغشته به چسب Egg albumen منتقل و جهت خشک شدن آن‌ها بر روی پلیت داغ با دمای 30 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس جهت رنگ آمیزی مقاطع تهیه شده از روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین استفاده شد. پس از تهیه مقاطع بافتی و رنگ آمیزی آن‌ها با کمک میکروسکوپ نیکون ساخت کشور ژاپن اقدام به شمارش فولیکول‌های فوق گردید در این بررسی برای محاسبه تعداد فولیکول‌ها (محاسبه استریولوژیک تعداد فولیکول‌های تخمدانی) از تکنیک دیسکتور فیزیکی استفاده گردید. برای انجام این تکنیک، تصویر دو مقطع بافتی پشت سر هم توسط دو پروژکتور روی میز کار انداخته شد و تصویر مقطع اول به عنوان مرجع و مقطع دوم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس برای شمارش، یک ترانسپرننت متشکل از فریم‌هایی با ابعاد 13×13 میلی‌متر بطور تصادفی روی نمونه قرار گرفت. این فریم

۳۰ mg/kg در سطح $p < 0.05$ و در دوزهای ۱۲۰ mg/kg و ۶۰ mg/kg در سطح $p < 0.01$ باعث افزایش معنادار در تعداد جنین‌های سقط شده در موش‌های باردار می‌گردد (جدول ۳).

فولیکول‌های پره آنترال، آنترال، گرآف، اجسام زرد و همچنین افزایش معنادار در تعداد فولیکول‌های آترتیک شده نسبت به گروه کنترل می‌گردد (جدول ۲). به علاوه بر اساس آنالیز داده‌های این مطالعه مشخص گردید که مصرف عصاره بابونه در دوز

جدول ۱. مقایسه میانگین سطح سرمی هورمون‌های FSH, LH, استروژن و پروژسترون در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه نسبت به گروه کنترل (خطای معیار میانگین \pm میانگین)

گروه‌ها	هورمون‌ها	FSH (ng/ml)	LH (ng/ml)	استروژن (ng/ml)	پروژسترون (ng/ml)
کنترل		۰/۷۳ \pm ۰/۱۵	۰/۵۴ \pm ۰/۰۹	۱۴۰/۸۶ \pm ۱۱/۸۸	۴۴/۴۵ \pm ۸/۵۵
شم		۰/۷۸ \pm ۰/۱۱	۰/۵۶ \pm ۰/۰۳	۱۲۴/۳۸ \pm ۱۳/۸۶	۴۲/۶۴ \pm ۶/۵۱
تجربی ۱ (بابونه ۳۰ mg/kg)		۰/۳۱ \pm ۰/۰۴*	۰/۳۷ \pm ۰/۰۲*	۸۴/۳۶ \pm ۵/۲۸*	۲۴/۷۲ \pm ۵/۴۵*
تجربی ۲ (بابونه ۶۰ mg/kg)		۰/۳۳ \pm ۰/۰۸*	۰/۲۹ \pm ۰/۰۳*	۵۸/۸۴ \pm ۴/۲۹**	۲۶/۱۵ \pm ۴/۶۴*
تجربی ۳ (بابونه ۱۲۰ mg/kg)		۰/۳۹ \pm ۰/۰۱*	۰/۲۶ \pm ۰/۰۶*	۳۶/۷۰ \pm ۱۲/۸۸**	۲۳/۶۳ \pm ۵/۸۵*

* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل
** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل

جدول ۲. مقایسه تعداد فولیکول‌های تخمدانی در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه نسبت به گروه کنترل (خطای معیار میانگین \pm میانگین)

گروه‌ها	دودمان سلولی	فولیکول آترتیک	فولیکول بدوی	فولیکول پره آنترال	فولیکول آنترال	فولیکول گرآف	جسم زرد
کنترل		۴/۲ \pm ۰/۸۳	۶/۸۰ \pm ۱/۳۰	۵/۶۰ \pm ۰/۳۳	۵/۲۰ \pm ۰/۷۱	۳/۲۰ \pm ۰/۲۳	۵/۶۰ \pm ۰/۳۳
شم		۳/۸۳ \pm ۰/۹۲	۶/۰۵ \pm ۰/۷۰	۵/۸۰ \pm ۰/۸۳	۴/۹۰ \pm ۰/۸۹	۲/۹۰ \pm ۰/۱۹	۵/۲۳ \pm ۰/۶۹
تجربی ۱ (بابونه ۳۰ mg/kg)		۳/۴۰ \pm ۰/۵۵	۶/۲۰ \pm ۱/۳۳	۶/۴۰ \pm ۰/۳۰	۴/۹۰ \pm ۰/۸۹	۲/۴۰ \pm ۰/۲۲	۴/۰۰ \pm ۰/۸
تجربی ۲ (بابونه ۶۰ mg/kg)		۷/۸۰ \pm ۰/۳۵*	۵/۶۰ \pm ۰/۵۴	۳/۰۵ \pm ۰/۲۱*	۲/۴۵ \pm ۰/۳۳*	۱/۴۵ \pm ۰/۰۳*	۲/۰۰ \pm ۰/۴۱*
تجربی ۳ (بابونه ۱۲۰ mg/kg)		۸/۶۰ \pm ۰/۹۸*	۵/۲۶ \pm ۱/۱۴	۲/۸۰ \pm ۰/۴۶*	۲/۷۵ \pm ۰/۸۵*	۱/۷۵ \pm ۰/۰۵*	۲/۸۰ \pm ۰/۴۱*

* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل
** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل

جدول ۳. مقایسه میانگین تعداد جنین‌های سقط شده در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه نسبت به گروه کنترل (خطای معیار میانگین \pm میانگین)

گروه‌ها	دودمان سلولی	کنترل	شم	تجربی ۱ (بابونه ۳۰ mg/kg)	تجربی ۲ (بابونه ۶۰ mg/kg)	تجربی ۳ (بابونه ۱۲۰ mg/kg)
تعداد جنین‌های سقط شده		۱/۰۱ \pm ۰/۰۳	۱/۵۱ \pm ۰/۰۶	۲/۶۱ \pm ۰/۰۸*	۳/۴۱ \pm ۰/۰۳**	۳/۵۱ \pm ۰/۰۹

* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ نسبت به گروه کنترل
** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.01$ نسبت به گروه کنترل

سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون، FSH و LH و همچنین کاهش تعداد فولیکول‌های پره آنترال، آنترال، گرآف و اجسام زرد و همچنین باعث افزایش

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه بابونه در موش‌های صحرایی ماده بالغ باعث کاهش میزان

تعداد فولیکول‌های آنتریک شده می‌گردد و در موش‌های صحرایی بارداری نیز باعث افزایش جنین‌های سقط شده می‌گردد. برخلاف نتایج حاصل از این مطالعه در یک بررسی دیگر نشان داده شده که عصاره گل‌های گیاه بابونه بر میزان سرمی هورمون‌های FSH و LH تاثیر معناداری نداشته در حالی که در دوزهای پایین باعث افزایش پروژسترون و کاهش استروژن و فولیکول‌های اولیه و گرآف می‌گردد [۲۴]. در یک مطالعه دیگر نشان داده شده است که عصاره گیاه بابونه در موش‌های با اختلال تخمدان پلی کیستیک و سالم قادر است میزان سرمی هورمون‌های استرادیول، LH و FSH را کاهش دهد [۲۵، ۱۶]. بسیاری از گزارشات علمی بیانگر نقش تحریکی گابا بر ترشح هورمون GnRH می‌باشند [۲۶]. به طوری که تزریق باکلوفن به عنوان آگونیست گیرنده‌های گابا باعث افزایش سریع ترشح هورمون LH می‌گردد [۲۷]. نشان داده شده است که عصاره گیاه بابونه باعث مسدود شدن رسپتورهای بنزودیازپینی گابا می‌شود [۲۹، ۲۸]. از طرف دیگر مشخص شده است که اپی ژنین موجود در عصاره گیاه بابونه از طریق اثر بر نورون‌های گاباژئیک بر ترشح هورمون LH موثر است [۱۶]. لذا احتمالاً در پژوهش حاضر نیز عصاره گیاه بابونه با واسطه نورون‌های گاباژئیک اثرات خود را بر سیستم تولید مثلی اعمال نموده است. در یک مطالعه دیگر نیز نشان داده شده است که در موش‌های صحرایی نر بالغ عصاره بابونه باعث کاهش هورمون تستوسترون و افزایش هورمون استرادیول می‌گردد [۳۰]. هم سو با نتایج این بررسی نتایج حاصل از یک مطالعه دیگر نیز نشان داد که عصاره برگ‌های گیاه بابونه باعث افزایش سقط جنین می‌شود [۲]. همچنین نشان داده شده است که عصاره گیاه بابونه از طریق آسیب به جفت در موش‌های صحرایی بارداری دیابتی شده باعث افزایش آمار سقط جنین در این حیوانات می‌شود [۳۱]. برخلاف نتایج مطالعه

حاضر در یک بررسی دیگر نشان داده شد که عصاره گیاه بابونه تاثیری بر تعداد جنین‌های سقط شده در موش‌های صحرایی بارداری ندارد [۳۲]. عصاره گیاه چای کوهی که از نظر ترکیبات مشابه با بابونه می‌باشد دارای خواص سقط آور می‌باشد و لازم است مصرف این گیاه در دوران بارداری با احتیاط صورت گیرد [۳۳]. با توجه به کاهش میزان سرمی هورمون‌های LH و FSH در مطالعه حاضر و نقش کلیدی این هورمون‌ها در فرایند فولیکول‌ریزی و تولید و ترشح هورمون‌های جنسی، کاهش تعداد فولیکول‌های تخمدانی و همچنین کاهش میزان سرمی هورمون‌های استروژن و پروژسترون دور از انتظار نیست و از آن جا که برای حفظ جنین به مقادیر کافی از هورمون‌های استروژن و پروژسترون نیاز است [۳۴] و در مطالعه حاضر نیز میزان این دو هورمون کاهش یافته است، لذا افزایش تعداد جنین‌های سقط شده در این بررسی نیز قابل توجیه است. مشخص شده است رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن که به عنوان واسطه گرهای عملکردی در سیستم‌های بیولوژیک شناخته می‌شوند [۳۵]. در غلظت‌های متوسط نقش مهمی در فرایندهای انتقال سیگنال‌های دخیل در رشد و مهار آپوپتوز ایفا می‌کنند [۳۶] و از طرف دیگر تحقیقات جدید عوارض جانبی و غیر منتظره آنتی اکسیدان‌ها را نشان داده و اظهار می‌دارند که اکسیدان‌های فعال موجود در فولیکول‌های تخمدانی، در قبل از تخمک گذاری برای رشد و نمو این فولیکول‌ها و عمل تخمک گذاری ضروری اند و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در تخمدان‌ها، از رشد فولیکول‌های تخمدانی و عمل تخمک گذاری ممانعت می‌نمایند [۳۷]. از آن جا که عصاره گیاه بابونه غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان می‌باشد [۵، ۶]، لذا در پژوهش حاضر نیز عصاره گیاه بابونه احتمالاً به دلیل ویژگی‌های آنتی اکسیدانی قوی و از طریق کاهش شدید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن در تخمدان‌ها باعث

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدرو الکلی بابونه باعث کاهش هورمون‌های LH و FSH می‌گردد و احتمالاً از این طریق منجر به کاهش هورمون‌های استروژن، پروژسترون، تعداد فولیکول‌های پره آنترال، آنترال گرآف و اجسام زرد و افزایش فولیکول‌های آرتیک و جنین‌های سقط شده می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد سرکار خانم زهرا میرزاخانی به شماره ۱۲۳۵۴۳۶۵۷۸ می‌باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز تقدیر و تشکر به عمل آورند.

افزایش فولیکول‌های آرتیک و کاهش سایر فولیکول‌های تخمدانی و هورمون‌های جنسی شده است. به علاوه نشان داده شده است رگ زایی برای رشد و نمو فولیکول‌های تخمدانی نقش مهمی دارد. اختلال در رگ‌زایی فولیکول‌های تخمدان به آترزی فولیکولی منجر می‌شود [۳۸]. از آن جا که برای تحریک رگ‌زایی فولیکولی، محدودیت اکسیژن لازم است و گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند به عنوان انتقال‌دهنده سیگنال‌های مربوط به رگ‌زایی [۳۶] پاسخ‌های رگ‌زایی ایجاد نمایند [۳۹]. از بین رفتن شدید گونه‌های فعال اکسیژن توسط خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه بابونه [۴۰] می‌تواند با کاهش خون‌رسانی به فولیکول‌های تخمدانی دلیلی برای از بین رفتن فولیکول‌های پره آنترال، آنترال، گراف و کاهش معنادار تعداد آنها و افزایش تعداد فولیکول‌های آرتیک و حتی افزایش تعداد جنین‌های سقط شده به دلیل کاهش عروق خونی دیواره رحم شده باشد.

References

- 1- Aflatoonian A, Seyedhassani SM, Tabibnejad N. The epidemiological and etiological aspects of Infertility in Yazd province of Iran. *Jnt J Reprod Bio Med*. 2009 Summer;7(3):117-122.
- 2- Herbison AE. Physiology of the gonadotropin-releasing hormone neuronal network. In: Neill JD, Plant TM, editors. *Knobil and Neil's Physiology of Reproduction*, 3rd ed. NewYork: Raven Press, 2006:1415-1482.
- 3- Massaro D, Massaro GD. Estrogen regulates pulmonary alveolar formation, loss, and regeneration in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004 Dec;287(6): L1154-9.
- 4- Biglari F, Abbas FM, Karkhi AI, Azhar ME. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem*. 2008 Apr; 107(4):1636-1641.
- 5- McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res*. 2006;20(7):519-30.

- 6-Srivastava JK, Pandey M, Gupta S. Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. *Life Sci.* 2009 Nov;85(19-20):663-9.
- 7- Amsterdam JD, Shults J, Soeller I, Mao JJ, Rockwell K, Newber AB. Chamomile (*Matricaria recutita*) may have antidepressant activity in anxious depressed humans - an exploratory study. *Altern Ther Health Med.* 2012 Sep-Oct;18(5): 44-49.
- 8- Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. *Mol Med Report.* 2010 Nov; 3(6): 895-901.
- 9- Karimian Z, Sadat Z, Bahrami N, Kafaie M. Comparison of chamomile and mefenamic acid capsules in hemorrhage of menstruation. *Iran J Obstet Gynecol Infertil.* 2015;18(157):11-17. [Full text in Persian]
- 10- Sharifi F, Simbar M, Mojab F, Alavi Majd H. Comparison of the Effects of *Matricaria chamomila* (Chamomile) extract and Mefenamic acid on the intensity of mastalgia associated with premenstrual syndrome. *Women's Health Bull.* 2014 Jul; 1(2): e20042
- 11- Karimian Z, Sadat Z, Abedzadeh M, Sarafraz N, Kafaie Atrian M, Bahrami N. Comparison the effect of mefenamic acid and *Matricaria Chamomilla* on primary dysmenorrhea in Kashan medical university students. *J Ardabil Univ Med Sci.* 2013 Winter; 13(4):413-420. [Full text in Persian]
- 12- Yazdani M, Shahrani M, Hamedi B. Comparison of Fennel and Chamomile extract and placebo in treatment of premenstrual syndrome and dysmenorrhea. *J Hormozgan Univ Med Sci.* 2004 Spring; 8 (1):57-61. [Full text in Persian]
- 13-Kesmati M, Raei H, Zadkarami M. Comparison between sex hormones effects on locomotor activity behavior in presence of *Matricaria chamomile* hydroalcoholic extract in gonadectomized male and female adult mice. *Iran J Biol.* 2006 Spring;19(1):98-108.
- 14- Pourmehdi Rad G, Kesmati M. Comparison of anxiolytic effect of *Matricaria recutita* in male and female mice in the presence and absence of gonads. *ZJRMS.* 2009 Summer; 11 (2):19-29. [Full text in Persian]
- 15- Harati E, Sadeghipour Roodsari HR, Seifi B, Kamalinejad M, Nikseresht S. The effect of oral *Matricaria Chamomilla* extract and selenium on postpartum depression and plasma oxidant-antioxidant system in mice. *Tehran Univ Med J.* 2014 Jan; 71 (10) :625-634. [Full text in Persian]
- 16- Farideh ZZ, Bagher M, Ashraf A, Akram A, Kazem M. Effects of Chamomile extract on biochemical and clinical parameters in a rat model of polycystic ovary syndrome. *J Reprod Infertil.* 2010 Oct; 11(3): 169-74.
- 17- Modares M, Besharat S, Rahimi K, Besharat S, Mahmoudi M, Salehi Sourmaghi H. Effect of ginger and Chamomile capsules on nausea and vomiting in pregnancy. *J Gorgan Univ Med Sci.* 2012 Spring; 14(1) :46-51. [Full text in Persian]
- 18- Baharara J, Rostampoor M. Evaluation of teratogenic effects of *Matricaria chamomile* in Balb/C Mouse. *Iran J Obstet Gynecol Infertil.* 2007 Fall-Winter;9(2):33-38. [Full text in Persian]
- 19- Kesmati M, Davoodi Korani A, Torabi M. Effects of the hydro-alcoholic extract of chamomile (*Matricaria recutita*) on acute and chronic pain in the presence and absence of estrogen receptors in adult male and female mice. *JBUMS.* 2015 Summer; 17 (7) :66-73. [Full text in Persian]
- 20- Gul S, Rubab B, Ahmad N, Urooba I. Herbal drugs for abortion may prove as better option in terms of safety, cost & privacy. *JSIR J.* 2015 Apr; 4(2): 105-108.
- 21- Sereshti M, Azari P, Rafieian M, Kheiri S. Use of herbal medicines by pregnant women in Shahrekord. *J Reprod Infertil.* 2006 Jul-Sep;7(2): 125 -131.
- 22- Hatami L, Estakhr J. The effects of hydroalcoholic extract of *matricaria recutita* on the hormonal pituitary-testis axis and testis tissue changes of mature male rats. *J Fasa Univ Med Sci.* 2013; 3(1):56-62. [Full text in Persian]
- 23- Hosseini SE, Forazanfar M, paye dar A. The effect of hydroalcoholic extract of purslane (*Portulaca oleracea* L) on serum concentration of estrogen, progesterone, prolactin and gonadotropins in mature rats. *J Shahrekod Univ Med Sci.* 2013 Dec-Jan;15(5); 34-41. [Full text in Persian]
- 24- Bayat P, Kalantar Hormozi E. Effects of unethal dose of *Listeria monocytogenes* on abortion and fetal abnormalities in haploid Balb/c mice. *Iran J Med Microbiol.* 2011 Fall; 4 (4):14-20. [Full text in Persian]

- 25- Johari H, Sharifi E, Mardan M, kafilzadeh F, Hemayatkhah V, Kargar H, et al. The effects of a hydroalcoholic extract of *Matricaria chamomilla* flower on the pituitary-gonadal axis and ovaries of rats. *Int J Endocrinol Metab*. 2011 Spring;9(2):330-334.
- 26- Watanabe M, Fukuda A, Nabekura J. The role of GABA in the regulation of GnRH neurons. *Front Neurosci*. 2014 Nov; 8(387):1-9.
- 27- Jackson GL, Wood SG, Kuehl DE. A gamma-aminobutyric Acid B agonist reverses the negative feedback effect of testosterone on gonadotropin-releasing hormone and luteinizing hormone secretion in the male sheep. *Endocrinology*. 2000 Nov;141(11):3940-5.
- 28-Kahnberg P, Lager E, Rosenberg C, Schougaard J, Camet L, Sterner O, et al. Refinement and evaluation of a pharmacophore model for flavone derivatives binding to the benzodiazepine site of the GABA(A) receptor. *J Med Chem*. 2002 Sep;45(19):4188-201.
- 29- Ciechanowska M, Lapot M, Malewski T, Mateusiak K, Misztal T, Przekop F. Effects of GABA(A) receptor modulation on the expression of GnRH gene and GnRH receptor (GnRH-R) gene in the hypothalamus and GnRH-R gene in the anterior pituitary gland of follicular-phase ewes. *Anim Reprod Sci*. 2009 Apr;111(2-4):235-248.
- 30- Karbalay-Doust D, Noorafshan A, Dehghani F, Panjehshahin MR, Monabati A. Effects of hydroalcoholic extract of *Matricaria chamomilla* on serum testosterone and estradiol levels, spermatozoon quality and tail length in rat. *IJMS*. 2010 Jun;35(2):122-128.
- 31- Namjooyan F, Panahi M, Ahmadpour F, Darvish A, Azemi M, Samaee H, et al. Effect of *Matricaria chamomilla* L. extract on fetal absorption, placenta structure and liver of diabetic pregnant rats. *Planta Med*. 2011 Aug;77(12): PM184.
- 32- Arruda JT. Effect of aqueous extract of chamomile (*Chamomilla recutita* L.) on rat pregnancy and offspring development. *Planta Med*. 2013 Jan;15(1):66-71.
- 33- Jafarzadeh L, Asgari A, Golshan-Iranpoor F, Kheiri S, Parvin N, Rafieian M, et al. Abortifacient effects of *Stachys lavandulifolia* Vahl in mice. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2010; 11 (4) :26-31. [Full text in Persian]
- 34- Milligan SR, Cohen PE. Silastic implants for delivering physiological concentrations of progesterone to mice. *Reprod Fertil Dev*. 1994 Feb; 6(2): 235-239.
- 35- Kim Y, Lee YS, Choe J, Lee H, Kim YM, Jeoung D. CD44-epidermal growth factor receptor interaction mediates hyaluronic acid-promoted cell motility by activating protein kinase C signaling involving Akt, Rac1, Phox, reactive oxygen species, focal adhesion kinase, and MMP- 2. *J Biol Chem*. 2008 Aug; 283(33): 22513-22528.
- 36- Tropea A, Miceli F, Minici F, Tiberi F, Orlando M, Gangale MF. Regulation of vascular endothelial growth factor synthesis and release by human luteal cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jun; 91(6): 2303-309.
- 37- Shkolnik K, Tadmor A, Ben-Dor S, Nevo N, Galiani D, Dekel N. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 201 Jan; 108(4): 1462-1467.
- 38- Bruno JB, Matos MHT, Chaves RN, Celestino JJH, Saraiva MVA, Lima-Verde IB. Angiogenic factors and ovarian follicle development. *Anim Reprod*. 2009 Apr-Jun; 6(2): 371-379.
- 39- Basini G, Grasselli F, Bianco F, Tirelli M, Tamanini C. Effect of reduced oxygen tension on reactive oxygen species production and activity of antioxidant enzymes in swine granulosa cells. *Biofactors*. 2004 Nov; 20(2): 61-69.
- 40- Namvaran Abbas abad A, Khayat Nouri MH. Interactions between *Matricaria recutita* and cisplatin on PTZ-induced seizure threshold in mice. *FEYZ*. 2011 Fall;15(3):188-193. [Full text in Persian]