فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲٤، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ۵۲۹-۵۱۹ (۱۳۸۷)

اثر فیتواستروژنی گل بابونه (*Matricaria recutita* L.) و ارتباط آن با استروژنهای درون‌زا بر فعالیت حرکتی در تست میدان باز

مسعود نقش‌جواهری[۱]، مهناز کسمتی[۲*] و علی‌اصغر پیله‌وریان[۳]

۱- کارشناس ارشد، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، پست الکترونیک: kesmatim@scu.ac.ir

۳- استادیار، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان

تاریخ دریافت: اسفند ۸٦ تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷

چکیده

اطلاعات ناچیزی در خصوص اثر ترکیبهای فیتواستروژنی بر پدیده‌های فیزیولوژیک و تداخل اثر آنها با استروژنهای درون‌زا وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر فیتواستروژنی عصاره هیدروالکلی گل بابونه (*Matricaria recutita* L.) و رابطه آن با استروژنهای درون‌زا بر فعالیت حرکتی با تجویز آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی (تاموکسیفن) در موشهای ماده بالغ بوده است. برای این منظور تعداد ٤۹ سر موش کوچک آزمایشگاهی ماده بالغ از نژاد NMRI با میانگین وزن ۳۲±۳ گرم به ۷ گروه ۷ تایی دریافت‌کننده: الف) سالین، ب) بابونه ۵۰mg/kg، ج) سه گروه دریافت کننده تاموکسیفن در غلظتهای ۰/۱ mg/kg، ۰/۵ mg/kg، ۰/۷۵ mg/kg، ج) دریافت‌کننده همزمان سالین و بابونه ۵۰ mg/kg، ه) دریافت‌کننده همزمان تاموکسیفن ۰/۵ mg/kg و بابونه ۵۰ mg/kg تقسیم شدند. جهت ارزیابی فعالیت حرکتی از دستگاه ثبت فعالیت حرکتی (Motor Activity Monitor) استفاده شد. چهار پارامتر حرکتی شامل حرکتهای آرام و سریع، روی دو پا ایستادن (Rearing) آرام و سریع اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد عصاره بابونه در دوز ۵۰ mg/kg فعالیت حرکتی سریع و روی دو پا ایستادن آرام را در موش سالم به‌طور معنی‌داری زیاد نموده و باعث افزایش نسبی سایر حرکات می‌شود. تاموکسیفن در دوز ۰/۵ mg/kg در موشهای ماده باعث کاهش حرکات سریع و آرام شده و در سایر دوزها اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد. بیشتر پارامترهای حرکتی در حضور بابونه و تاموکسیفن ۰/۵ mg/kg کاهش معنی‌داری می‌یابد. به نظر می‌رسد بابونه از طریق گیرنده‌های استروژنی، برخی پارامترهای حرکتی را تحت تأثیر قرار داده و وجود این گیرنده‌ها و احتمالاً استروژنهای درون‌زا برای فعالیت ترکیبهای فیتواستروژنیک این گیاه ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت حرکتی، دستگاه بررسی فعالیت حرکتی، گل بابونه (*Matricaria recutita* L.)، فیتواستروژن، تاموکسیفن.

مقدمه

حرکت و رفتار حرکتی یکی از پیچیده‌ترین پدیده‌های فیزیولوژیک است که نقش عمده‌ای در بقاء و حیات جانور ایفا می‌کند. رفتارهای حرکتی در ایجاد رقابتهای محیطی، انعطاف‌پذیری در پاسخ به تغییرات اجتماعی و موقعیتهای غیراجتماعی، رفتارهای تهاجمی، جنگ و گریز و خصوصاً تولید مثل حائز اهمیت است (Marczinski *et al*., 1998).

فعالیت حرکتی به‌عنوان یک پدیده مهم فیزیولوژیکی می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلف قرار گیرد. محققان دریافته‌اند که فعالیتهای حرکتی در مراکز متعددی تنظیم و با میانجی‌های عصبی گوناگونی مانند دوپامین، گلوتامات، استیل‌کولین، سروتونین، گابا، هیستامین، ماده P و آنکفالینها میانجی‌گری می‌شود (Bruce *et al*., 1999؛ Tou & Wade, 2002).

از این رو در ارتباط با نقش استرادیول در فعالیت حرکتی گزارشهای متنوعی وجود دارد. مشخص شده که این هورمون در موشهای نر و ماده اثر وابسته به جنس نشان می‌دهد. برای مثال، برخی مطالعات نشان داده‌اند که همراه با تغییرات وضعیت تولید مثلی موشهای صحرایی ماده، تغییرات شایان توجهی نیز در وزن بدن، فعالیت حرکتی و لانه‌سازی آنها دیده می‌شود. از جمله اینکه در پرواستروس، رفتارهای حفظ کننده انرژی (خوردن و آشیانه‌سازی) کاهش، فعالیت حرکتی افزایش و وزن حیوان کاهش پیدا می‌کند. این وضعیت در دی‌استروس معکوس می‌شود. از طرفی موشهای نر نسبت به ماده‌ها سنگین‌تر بوده و مصرف غذای بیشتر و فعالیت حرکتی کمتری دارند و نوسانهای تغذیه‌ای آنها بین روزهای مختلف ناچیز است. در این مطالعه پیشنهاد شد استرادیول که مهمترین هورمون تخمدانی است، احتمالاً تنظیم کننده وزن و فعالیت حرکتی می‌باشد و از طریق تحت تأثیر قرار دادن مغز، موجب تغییر رفتار خوردن و فعالیت حرکتی می‌شود (Sell *et al*., 2000).

اثر استروژن بر فعالیت حرکتی را می‌توان بیشتر به هسته دمدار و پوتامن، هسته آکومبنس، جسم سیاه و به‌ویژه به هسته‌های دوپامینرژیک در مغز میانی که در ارتباط با فعالیت حرکتی می‌باشند، مربوط دانست. پژوهشهای مختلفی نشان می‌دهد که گنادکتومی باعث کاهش فعالیت حرکتی می‌شود و در واقع نقش هورمونها را می‌توان به چگونگی تأثیر نروترانسمیترها نسبت داد (Hu & Becker, 2003؛ Fitch & Denebreg, 1999؛ Patisaul *et al*., 2004). فیتواستروژنها ترکیبهایی هستند که در بسیاری از گیاهان وجود دارند و از خود خواص استروژنی و در بعضی موارد ضد استروژنی نشان می‌دهند (Brienholt *et al*., 2000). عملکرد این مواد شیمیایی گیاهی در پیوند با گیرنده‌های استروژن در سلولهای بدن انسان آنچنان شبیه هورمونهای طبیعی است که باید آن را یکی از ترفندهای تکامل بشر در بهره‌گیری از طبیعت دانست (Tamaya 2005؛ McDermott *et al*., 1995). گیاه دارویی بابونه که در طب سنتی و مدرن بسیار مورد استفاده قرار گرفته دارای ترکیبهای فیتواستروژنیک می‌باشد. این داروی گیاهی باارزش دارای اثرهای متنوع ضد آلرژی، ضد اسپاسم، ضد اضطراب، ضد درد و... می‌باشد (Avallone *et al*., 2000).

با توجه به مصرف گسترده گیاه بابونه و در ادامه تحقیقی که نشان دادیم این گیاه دارویی اثر وابسته به جنس در رابطه با فعالیت حرکتی موشهای نر و ماده دارد (Raei *et al*., 2007)، اثر فیتواستروژنی این گیاه بر فعالیت حرکتی در موشهای ماده در حضوروغیاب تاموکسیفن به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های استروژنی مورد بررسی قرار گرفت تا به چگونگی عمل آن بر استروژنهای درون‌زا و گیرنده‌های استروژنی پی برده شود.

نتایج این تحقیق نه‌تنها می‌تواند مکانیسم اثر گل بابونه را بر فعالیت حرکتی مشخص‌تر نماید، بلکه می‌تواند اطلاعات کافی را به‌عنوان داروی مکمل برای رفع برخی اختلالات حرکتی در اختیار مصرف‌کنندگان قرار دهد.

مواد و روشها

حیوانات مورد آزمایش

در این مطالعه از موشهای سوری ماده با میانگین وزن ۳±۳۲ گرم از نژاد NMRI (خریداری شده از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز) استفاده شد. حیوانات به‌صورت تصادفی در هفت گروه تقسیم‌بندی و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و مواد غذایی به میزان کافی در اختیار حیوانات قرار داده شد. جهت تطابق حیوانات با محیط آزمایشگاه سه ساعت قبل از آزمایش گروههای مختلف از حیوانخانه به آزمایشگاه منتقل شدند.

گروه‌بندی حیوانات

برای هر گروه آزمایش، تعداد ۷ سر موش استفاده شد و گروهها شامل:

الف) گروه دریافت‌کننده سالین (شاهد تزریق)

ب) گروه دریافت‌کننده عصاره بابونه در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

ج) سه گروه دریافت‌کننده سه دوز مختلف تاموکسیفن (۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Patisaul *et al.*, 2004)

د) گروه دریافت‌کننده همزمان سالین و بابونه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Raei *et al.*, 2007)

ه) گروه دریافت‌کننده همزمان تاموکسیفن (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و بابونه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم

ارزیابی فعالیت حرکتی با کمک تست میدان باز در کلیه گروهها انجام شد. بدین صورت که گروههای آزمایشی دریافت‌کننده عصاره بابونه (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، تاموکسیفن (۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، سالین (شاهد) و تزریق همزمان تاموکسیفن و بابونه و گروههای کنترل، ۳۰ دقیقه بعد از تزریق (داخل صفاقی .i.p) آخرین دارو مورد ارزیابی فعالیت حرکتی قرار گرفتند (Callier *et al.*, 2001؛ Dluzen *et al.*, 2001).

گیاه بابونه و روش عصاره‌گیری

در این پژوهش از گلهای تازه و خشک شده گیاه بابونه با نام علمی (*Matricaria recutita*) که از شرکت گل داروی اصفهان در اواسط فصل بهار تهیه و توسط متخصصان بخش گیاه‌شناسی گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز شناسایی شده بود، استفاده شد. برای تهیه عصاره گل بابونه از روش خیساندن استفاده شد. برای این کار سرشاخه‌های گلدار خشک شده گیاه بابونه به‌وسیله آسیاب برقی در حد ملایم پودر شد. ۲۰ گرم از پودر حاصل با ۲۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۷۰٪ مخلوط و پس از گذشت ٤۸ ساعت محتویات داخل ظرف به‌وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه‌ای، داخل بشری صاف شد. محلول صاف شده به درون بالنی منتقل و حلال آن در دستگاه روتاری (تنظیم شده در دمای ۷۰ درجه با دور متوسط) خارج شد. مایع غلیظ حاصل روی شیشه‌ای پهن و در آون ۵۰ درجه خشک شد. پس از آن عصاره خشک شده به نرمی از روی شیشه جمع‌آوری و پودر حاصل از عصاره‌گیری در شیشه‌های تیره و در یخچال نگهداری شد (Gomaa, 2003). برای تهیه دوز مورد اشاره گل بابونه، پودر آن را به میزان ۵۰ میلی‌گرم در ۵ میلی‌لیتر سالین حل نموده و حجم مورد استفاده از این محلول متناسب با وزن حیوان محاسبه و تزریق شد. در گروههای شاهد تزریق، حجم سالین تزریقی ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان محاسبه و تزریق شد. سه دوز داروی تاموکسیفن (۰/۱، ۰/۵، ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از شرکت ایران هورمون و به‌صورت پودر سفید، ابتدا در یک قطره

الکل اتیلیک حل و سپس حجم آن را با سالین به ۵ میلی‌لیتر رسانده و متناسب با وزن حیوان به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد.

دستگاه ثبت کننده فعالیت حرکتی (Motor Activity Monitor)

جهت ارزیابی فعالیت و رفتارهای حرکتی در تست میدان باز از دستگاه Motor Activity Monitor مدل LE8811 ساخت کشور اسپانیا استفاده شد. این دستگاه شامل یک واحد ارزیاب (detection unit) (متشکل از کف و دو قاب چهارگوش روی‌هم، هر کدام مجهز به ۱۶×۱۶ سلول تشعشع‌کننده امواج مادون قرمز فرستنده و ۱۶×۱۶ سلول گیرنده) و یک واحد کنترل متصل به رایانه و مرتبط با نرم‌افزار ویژه (جهت پیکربندی پارامترها و تنظیمات لازم) می‌باشد که به‌صورت اتوماتیک و دیجیتالی پارامترهای حرکتی را آنالیز و آنها را ثبت و ذخیره می‌کند. تعیین فعالیت حرکتی و آنالیز پارامترهای آن براساس فراوانی و سرعت شکستن امواجی است که در زمان حرکت حیوان، اتفاق می‌افتد. پارامترهای قابل سنجش توسط این دستگاه به شرح زیر می‌باشد:

۱- S-MOV: تعداد حرکات آرام (Number of slow movments)

۲- F-MOV: تعداد حرکات سریع (Number of fast movments)

۳- S-REA: تعداد ریرینگ آرام (Number of slow rearing)

٤- F-REA: تعداد ریرینگ سریع (Number of fast rearing)

از این پارامترها ۲ پارامتر اول را قاب پایینی و ۲ پارامتر آخر را قاب بالایی دستگاه آنالیز می‌کند.

چگونگی ثبت فعالیت حرکتی

جهت ارزیابی فعالیت حرکتی در مرحله اول هر یک از موشها ٢٤ ساعت قبل از تست به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه به‌منظور سازگاری با محیط رها شدند. در روز دوم در مرحله آزمایش بعد از قرار دادن هر حیوان در یکی از چهار گوشه واحد ارزیاب (صورت رو به کنج)، دکمه شروع را فشار داده، دستگاه در مدت تنظیم شده به‌طور اتوماتیک حرکات حیوان را آنالیز و پارامترهای حرکتی را ثبت و به‌طور دیجیتالی آنها را ذخیره نمود.

تمامی آزمایشها در فاز روشنایی بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعدازظهر و در زیر نور فلورسانت معمولی آزمایشگاه انجام شد و بعد از پایان هر آزمایش کف و دیوارهای واحد ارزیاب با پنبه آغشته به الکل تمیز و خشک شد. همچنین در ابتدای هر آزمایش کف دستگاه با یک محلول بدبو یا زننده (به‌منظور دوری از اثر تحریکی بالقوه باقیمانده بوی ادرار و مدفوع حیوان قبلی بر روی فعالیت حرکتی) به‌طور ملایم آغشته شد. در این کار از روغن بادام تلخ استفاده شد (Callier *et al.*, 2001؛ Dluzen *et al.*, 2001). در تمامی آزمایشها زمان ثبت فعالیت حرکتی۱۰ دقیقه و Level=6* (معادل ۱۰ متر بر ثانیه) تنظیم شد.

*، به این مفهوم است که دستگاه شکستن امواج با سرعت ۱۰ و بالاتر از آن را جزء حرکات سریع و کمتر از آن را جزء حرکات آرام محاسبه می‌کند.

آنالیز آماری

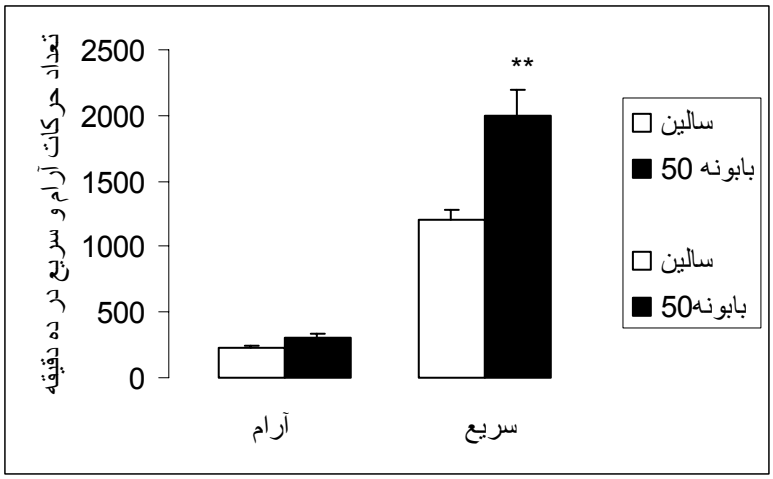
برای ارزیابی آماری داده‌های آزمایش از نرم‌افزار SPSS و روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون t استفاده شد. آزمون توکی برای بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین گروههای مختلف مورد استفاده قرار

گرفت. در تمام آزمایشهای انجام شده سطح معنی‌داری ($P<0.05$) در نظر گرفته شد. نمودارها با نرم‌افزار EXCEL و به‌صورت Mean ± S.E.M نمایش داده شدند.

نتایج

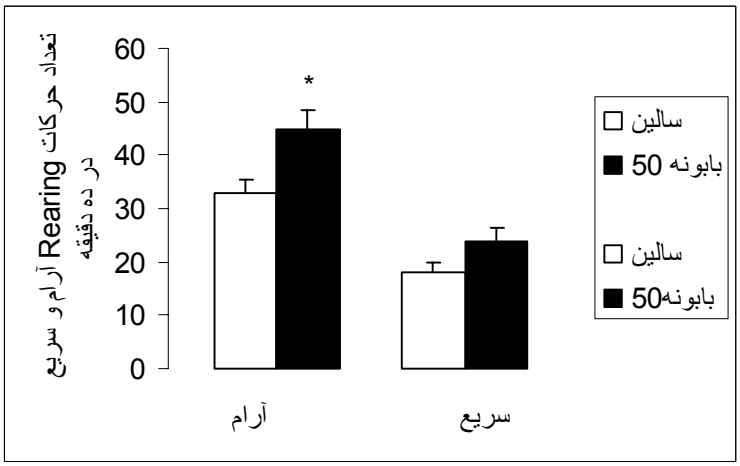
۱) اثر بابونه بر فعالیت حرکتی در موش ماده بالغ

با تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی بابونه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گذشت نیم ساعت، ده دقیقه فعالیت حرکتی در مقایسه با تزریق سالین ارزیابی شد. نتایج آزمون آماری t نشان داد بابونه باعث افزایش معنی‌دار فعالیت حرکتی در دو پارامتر حرکت سریع و ریرینگ آرام شد ($p<0.01$ و $p<0.05$) و در سایر موارد باعث افزایش نسبی حرکات شد (شکلهای ۱ و ۲).



شکل ۱- مقایسه اثر بابونه (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سالین بر حرکات آرام و سریع موش ماده بالغ

آزمون t تفاوت معنی‌داری را بین گروههای دریافت کننده بابونه و سالین در حرکات آرام نشان نمی‌دهد، در حالی که در حرکات سریع با $p<۰/۰۱^{**}$ تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهد.

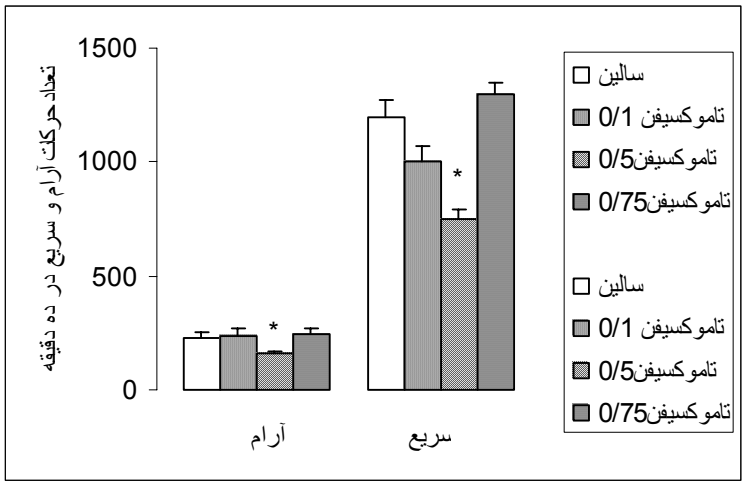


شکل ۲- مقایسه اثر بابونه (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سالین بر حرکات Rearing آرام و سریع موش ماده بالغ

آزمون t تفاوت معنی‌داری را بین گروه دریافت کننده بابونه و سالین در حرکات Rearing آرام نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵^{*}$)، در حالی که در حرکات Rearing سریع تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

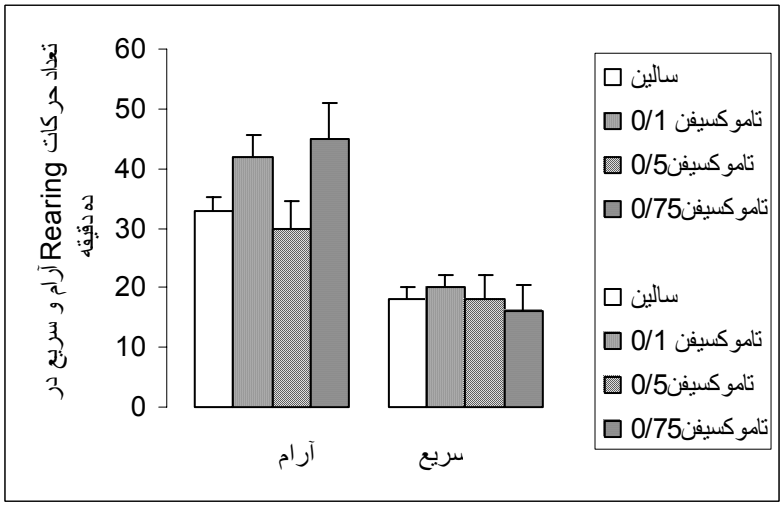
۲) اثر دوزهای مختلف تاموکسیفن بر فعالیت حرکتی در موش ماده بالغ

با تجویز درون صفاقی تاموکسیفن در دوزهای ۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بررسی فعالیت حرکتی در موش ماده، مشاهده شد که در دوز ۰/۵ دو پارامتر حرکت آرام و سریع کاهش معنی‌داری ایجاد شده و در بقیه موارد براساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و توکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکلهای ۳ و ٤). با توجه به مؤثرتر بودن دوز ۰/۵ نسبت به سایر دوزها از این دوز برای مراحل بعد استفاده شد.



شکل ۳- مقایسه اثر تاموکسیفن در سه دوز ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با سالین بر تعداد حرکات آرام و سریع در موش ماده بالغ

آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و توکی تفاوت معنی‌داری بین تاموکسیفن در دوزهای ۰/۱ و ۰/۷۵ با سالین در خصوص حرکات آرام و سریع نشان نمی‌دهد، در حالی که بین دوز ۰/۵ و سالین با $^{*}p<0/05$، کاهش معنی‌داری در حرکات فوق نشان می‌دهد.

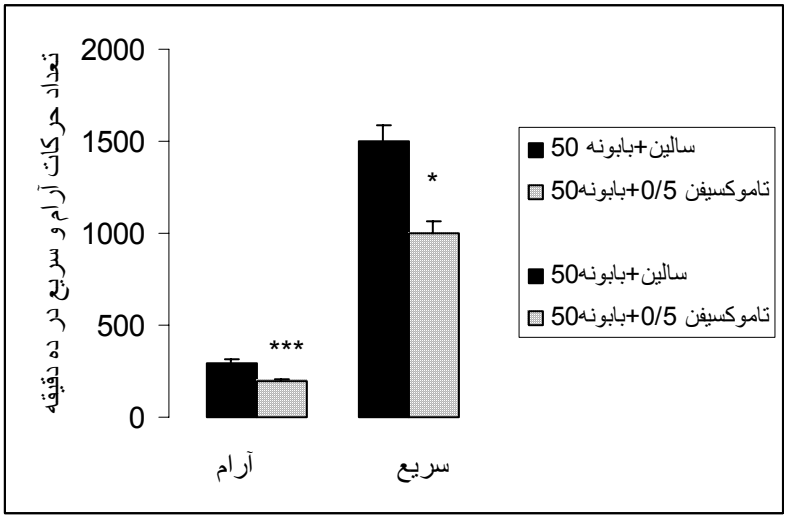


شکل ٤- مقایسه اثر تاموکسیفن در سه دوز ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با سالین (کنترل) بر تعداد حرکات آرام و سریع در موش ماده سالم

آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت معنی‌داری را بین هیچ یک از دوزهای تاموکسیفن و سالین بر حرکات ریرینگ آرام و سریع نشان نمی‌دهد.

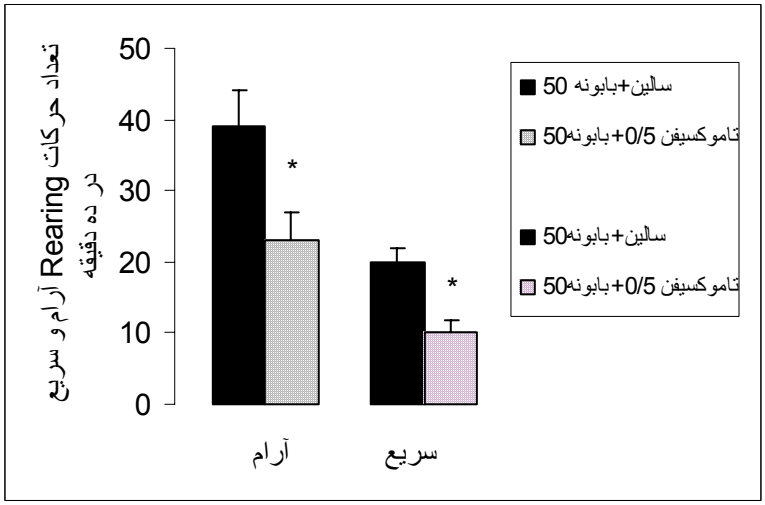
۳) اثر بابونه در حضور تاموکسیفن در موشهای ماده بالغ

تجویز متوالی تاموکسیفن ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بابونه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با اختلاف ۵ دقیقه باعث کاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۵$) بیشتر پارامترهای فعالیت حرکتی نسبت به شاهد تزریق (سالین و بابونه) شد (شکلهای ۵ و ٦). بدین ترتیب تاموکسیفن نقش مهاری یا ممانعتی در برابر اثر بابونه داشته است.



شکل ۵- اثر بابونه ۵۰ mg/kg در حضور تاموکسیفن ۰/۵ mg/kg بر حرکات آرام و سریع موش ماده بالغ

آزمون t تفاوت معنی‌داری را در حرکات آرام با $p<۰/۰۰۱^{***}$ و در حرکات سریع با $p<۰/۰۵^{*}$ بین گروههای دریافت‌کننده سالین+ بابونه و تاموکسیفن + بابونه نشان می‌دهد.



شکل ٦- اثر بابونه ۵۰ mg/kg در حضور تاموکسیفن ۰/۵ mg/kg بر حرکات Rearing آرام و سریع موش ماده بالغ

آزمون t تفاوت معنی‌داری را بین گروههای دریافت کننده سالین+ بابونه و تاموکسیفن+ بابونه در حرکات Rearing آرام و سریع نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵^{*}$).

بحث

همچنان‌که در نتایج نشان داده شد عصاره هیدروالکلی بابونه ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر برخی پارامترهای فعالیت حرکتی در موشهای ماده در تست میدان باز اثر تقویتی داشت (باعث افزایش معنی‌دار دو پارامتر حرکت سریع و ریرینگ آرام و افزایش نسبی سایر حرکات). در خصوص این اثر، مطالعات چندانی توسط محققان انجام نشده است، اما بدلیل اینکه نشان داده شده بابونه دارای ترکیبهای فیتواستروژنیک است می‌توان شواهد ناشی از تأثیر ترکیبهای استروژنیک را با آن مقایسه نمود.

در مطالعاتی نشان داده شده که استروژن با گیرنده آلفای مربوط به آن در تست میدان باز، در افزایش تعداد دفعات عبوری از تست روشن و تاریک و چرخ‌گردان نقش داشته، به‌طوری که حذف گیرنده باعث کاهش فعالیت شد (Ogawa *et al.*, 1997؛ Ogawa *et al.*, 1998). همچنین در سیکل استروس موش صحرایی ماده مشخص شده که فعالیت حرکتی در استروس (افزایش استروژن) افزایش و در دی‌استروس (کاهش استروژن) کاهش می‌یابد که خود دلیل بر اثر استروژن در دوره جنسی و رابطه آن با فعالیت حرکتی است (Brobeck & Wheatland, 1974؛ Bell & De Zuker, 1971).

اثر استروژن بر فعالیت حرکتی را بیشتر بایستی با تأثیر آن بر هسته دمدار و پوتامن، هسته آکومبنس و جسم سیاه و به‌ویژه سیستم دوپامینرژیک و حتی افزایش تأثیر آمفی‌تامین در این میان به‌انضمام سایر نروترانسمیترها دانست. مطالعاتی که ارتباط استروژن را با بیماری پارکینسون بیان می‌دارد، همگی می‌توانند اثر استروژن را بر فعالیت حرکتی تأیید نمایند (Fitch & Denebreg 1999؛ Hu & Becker, 2003؛ Sell *et al.*, 2000؛ Xiao *et al.*, 2003).

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه و افزایش فعالیت حرکتی ناشی از تزریق عصاره بابونه حاوی فیتواستروژنها به موش ماده و از آنجایی که این عمل فیتواستروژنی مشابه عملکرد استروژنی در افزایش فعالیت حرکتی به‌ویژه در جنس ماده می‌باشد، شاید بتوان انتظار داشت که فیتواستروژنها با خاصیت تحریک کنندگی سیستم حرکتی باعث افزایش فعالیت حرکتی شوند. همچنین بررسی Watson و همکاران (۲۰۰۵) از تأثیر مقلدهای استروژنی مانند فیتواستروژنها از طریق گیرنده‌های غشایی استروژنی آلفا که باعث فعال‌سازی آبشارهای سیگنالی آغاز شونده از غشای سلولی می‌شوند و منجر به عملکرد سلولی در خصوص فعال‌سازی زودرس می‌شوند، بحث نموده‌اند. اهمیت گیرنده آلفا استروژنی نیز در ارتباط با میانجی‌گری فلاونوئیدها که دارای خاصیت فیتواستروژنی هستند، نشان داده شده است (Frigo *et al.*, 2002).

در نتایج نیز نشان داده شد که تاموکسیفن فقط در دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار دو پارامتر فعالیت حرکتی شد. تاموکسیفن به‌عنوان یک دارو در بسیاری از موارد جهت سرطان سینه بکار می‌رود و این موفقیت مرهون تنظیم گیرنده استروژنی آن می‌باشد (Levine, 2003). در این رابطه مطالعات بسیاری انجام شده است که به جهت ارتباط کمتر آن با موضوع این پژوهش از بیان آنها خودداری شده است. در خصوص تأثیر تاموکسیفن بر فعالیت حرکتی، به‌طور مستقیم نیز تحقیقات بسیار اندکی انجام شده است.

بنابراین بررسی کنونی بازدارندگی تاموکسیفن با تکیه بر خاصیت آنتی‌استروژنیک آن و تأثیری است که استروژن بر فعالیت حرکتی دارد. از آنجایی که برای استروژن دو نوع گیرنده ژنومی و غیر ژنومی مطرح می‌کنند، با توجه به بررسی اثر فوری تاموکسیفن بر فعالیت حرکتی، در این مطالعه پیشنهاد می‌شود تاموکسیفن فقط توسط گیرنده‌های ژنومی استروژنی عمل نکرده بلکه احتمالاً به طریق گیرنده غیر ژنومیک آن بوده است. مشابه این تحقیق مطالعه‌ایست که نشان داد تحریک آزادسازی آراشیدونیک اسید (سازنده تاموکسیفن) به‌وسیله تاموکسیفن به‌واسطه اشغال گیرنده‌های ژنومی استروژن نبوده و غیر ژنومیک می‌باشد (Levine, 2003؛ Gao & Dluzen 2001).

در تأیید این پاسخ برخی مطالعات نشان داده‌اند، وقتی استرادیول به‌همراه تاموکسیفن به موش ماده تزریق شود رفتار موش را متوقف می‌نماید (Mckenna *et al*., 1992). همچنین نتایج بدست آمده از یک تغذیه متمم (چاشنی) فیتواستروژنی به‌همراه تاموکسیفن در موشهای صحرایی ماده نشان داده است که هر دو ترکیب همزمان با هم مانند آنتاگونیست استروژن بر رفتار جنسی آنها اثر بازدارنده دارد (Patisaul *et al.*, 2004). این موضوع نشان می‌دهد که تاموکسیفن به‌همراه بابونه که دارای ترکیبهای فیتواستروژنیک است، می‌تواند فعالیت حرکتی در جنس ماده را کاهش دهد که تأیید کننده نتایج این تحقیق می‌باشد.

بدین‌ترتیب، پیشنهاد می‌شود پیش درمانی با تاموکسیفن مانع از تأثیر عصاره بابونه بر فعالیت حرکتی می‌شود. مکانیسم احتمالی این است که ترکیبهای فیتواستروژنیک بابونه (با خاصیت استروژنی) نمی‌توانند در حضور تاموکسیفن، فعالیت حرکتی موش ماده را از طریق گیرنده‌های استروژنی که در حالت طبیعی مورد استفاده هورمونهای استروژنی درونی قرار می‌گیرند، افزایش دهند.

با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد بابونه از طریق گیرنده‌های استروژنی، برخی پارامترهای حرکتی را تحت تأثیر قرار داده و وجود این گیرنده‌ها و احتمالاً استروژنهای درونی برای فعالیت ترکیبهای فیتواستروژنیک این گیاه ضروری می‌باشد. بدین‌ترتیب نتایج این تحقیق نه‌تنها مکانیسم اثر گل بابونه را بر فعالیت حرکتی مشخص‌تر نمود، بلکه نشان داد این گیاه به‌عنوان داروی مکمل برای رفع برخی اختلالات حرکتی کارایی کافی را دارد.

منابع مورد استفاده

- Avallone, R., Zanoli, P., Puia, G., Kleinschnitz, M., Schreier, P. and Baraldi, M., 2000. Pharmrcological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. Biochemical pharmacology, 59(11): 1387-1394.
- Bell, D. and De Zuker, I., 1971. Sex differences in body weight and eating: Organization and activation by gonadal hormones in the rats. Physiology & Behavior, 7: 27-37.
- Brienholt, V., Hossaini, A., Svendsen, G.W, Brouwer, C. and Nielsen, E., 2000. Estrogenic activity of flavonoids in mice. The importance of estrogen receptor distribution, metabolism and bioavailability. Food and Chemical Toxicology, 38(7): 555-564.
- Brobeck, J.R. and Wheatland, M., 1974. Variations in regulation of energy exchange associated with esterus, diesterus and psedopregnancy in rats. Journal of Endocrinology, 40: 65-72.
- Bruce, S., McEwen, B.S. and Stephen E., 1999. Estrogen actions in the central nervous system. Endocrine Review, 20(3): 279-307.
- Callier, S., Morissette, M., Grandbois, M., Pelaprat, D. and Di Paolo, T., 2001. Neuroprotective properties of 17beta-estradiol, progesterone, and raloxifene in MPTP C57Bl/6 mice. Synapse, 41(2): 131-138.

- Dluzen, D.E., McDermott, J.L. and Anderson, L.I., 2001. Tamoxifen diminishes methamphetamine-induced striatal dopamine depletion in intact female and male mice. Journal of Neuroendocrinology, 13(7): 618-624.
- Fitch, R.H. and Denebreg, V.H., 1999. A role for ovarian hormones in sexual differentiation of the brain. Behavior and brain science, 11: 933-942.
- Frigo, D.E., Duong, B.N., Melink, L.I., Schief, L.S., Collins-Burow, B.M., Pace, D.K. and Mclachlan, J.A., 2002. Flavonoid phytochemical regulate activator protein-1 signal transduction phatways in endometrical and kidney stable cell line-1. Journal of Nutrition, 132: 1848-1853.
- Gao, X. and Dluzen, D.E., 2001. Tamoxifen abolishes estrogen's neuroprotective effect upon methamphetamine neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system. Neuroscience, 103(2): 385-394.
- Gomaa, A., Hashem, T., Mohamed, M. and Ashry, E., 2003. Matricaria chamomilla extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. Journal of Pharmacological Sciences, 92: 50-55.
- Hu, M. and Becker, J.B, 2003. Effects of sex and estrogen on behavior sensitization to cocaine in rats. The Journal of Neuroscience, 23(2): 693-699.
- Levine, L., 2003. Tamoxifen stimulates arachidonic acid release from rat liver cells by an estrogen receptor-independent, non-genomic mechanism. BMC Cancer, 3: 24.
- Marczinski, C., Pirot-Sinal, T.S., Kavaliers, M. and Ossenkopp, K.P., 1998. Sex differences in spontaneous locomotor's activity and rotational behavior in Medow Voles. Physiology & Behavior, 65(2): 387-391.
- McDermott, J.L,, Liu, B. and Dluzen, D.E., 1995. Tamoxifen treatment of ovariectomized mice alters dopamine release from striatal tissue fragments superfused in vitro. Brain Research, 698(1-2): 248-252.
- McKenna, S.E., Simon, N.G. and Cologer-Clifford, A., 1992. An assessment of agonist/antagonist effects of tamoxifen in the female mouse brain. Hormones and Behavior, 26(4): 536-544.
- Ogawa, S., Lubahn, D.B., Korach, K.S. and Pfaff, D.W., 1997. Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice. Neurobiology, 94(4): 1476-1781.
- Ogawa, S., Vincent, E., Taylor, J., Lubahn, D.B., Korach, K.S. and Pfaff, D.W., 1998. Roles of estrogen receptor gene expression in reproduction-related behaviors in female mice. Endocrinology, 139(12): 5070-5081.
- Patisaul, H.B., Luskin, J.R. and Wilson, M.E., 2004. A soy supplement tamoxifen inhibit sexual behavior in female rats. Hormones and Behavior, 45(4): 270-277.
- Raei, H., Kesmati, M. and Zadkarami, M.R., 2007. The effect of Gonadectomy and sex-related differences in response to *Matricaria Chamomilla* Extract on locomotor activity behavior in mice. Journal of Mazandran University of Medical Sciences, 17(58): 43-56.
- Sell, S.L., Scalzitti, J.M., Thomas, M.L. and Cunningham K.A., 2000. Influence of ovarian hormones and estrous cycle on the behavioral response to cocaine in female rats. Pharmacology, (3): 879-886.
- Tamaya, T., 2005. Phytoestrogens and reproductive biology. Reproductive Medicine and Biology, 4: 225-229.
- Tou, J.C.L. and Wade, C.E., 2002. Determinations affecting physical activity levels in animal models. Experimental Biology and Medicine, 227: 587-600.
- Watson, C.S., Bulayeva, N.N., Wozniak, A.L. and Finnerty, C.C., 2005. Signaling from the membrane via membrane estrogen receptor-alpha: Estrogens, xenoestrogens, and phytoestrogens. Steroids, 70(5-7): 364-371.
- Xiao, L., Jackson, L.R. and Becker, J.B., 2003. The effect of estradiol in the striatum is blocked by ICI 182,780 but not tamoxifen: pharmacological and behavioral evidence. Neuroendocrinology, 77(4): 239-245.

Phytoestrogenic effect of *Matricaria recutita* L. and its relationship with endogenous estrogens on locomotor activity in open field test

M. Naghshe Javaheri[1], M. Kesmati[2*] and A.A. Pilevarian[3]

1- Department of Biology, Payame Noor University of Isfahan, Iran
2*- Corresponding author, Department of Biology, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran, Email: kesmatim@scu.ac.ir

Received: Februery 2008 Revised: November 2008 Accepted: November 2008

Abstract

There are limited information about phytoestrogenic components on physiological phenomena and their interactions with endogenous estrogens. The aim of this investigation to examined the phytoestrogenic effect of *Matricaria recutita* L. (MR) and it is relationship with endogenous estrogens on locomotor activity with administration of estrogenic receptors antagonist (tamoxifen) on adult female mice. 49 NMRI adult female mice weighted 32±3 grams in 7 groups (each group was 7 mice) receiving: 1) saline, 2) MR (50 mg/kg), 3) tamoxifen (0.1, 0.5, 0.75 mg/kg, in 3 separate groups), 4) saline + MR, 5) tamoxifen (0.5 mg/kg) +MR were used. Motor activity monitor was used for locomotor activity evaluation. Four locomotors parameters such as fast and slow activity and fast and slow rearing were measured. The results showed that: MR (50 mg/kg) increase significantly the fast activity and slow rearing in female mice and partially the other locomotor parameters. Tamoxifen (0.5 mg/kg) decreased fast and slow activity in female mice and other doses had no effect. Most of locomotor parameters decrease significantly in presence of MR and tamoxifen (0.5 mg/kg). It seems MR affects locomotor activity parameters through the estrogenic receptors, and the presence of this receptors and endogenous estrogens are essential for action of its phytoestrogenic components.

Key words: Locomotor activity, motor activity monitor, *Matricaria recutita* L., phytoestrogen, tamoxifen.