

Study of the the anxiolytic effects of fennel and possible roles of both GABAergic system and estrogen receptors in these effects in adult female rat

Sara Pourabbas^{1*}, Mahnaz kesmati¹, Abdolrahman Rasekh²

1. Dept. Biology, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
2. Dept. Statistic, School of Mathematics, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Received: 14 Aug 2010

Accepted: 8 Jan 2010

Abstract

Introduction: Fennel is rich in phytoestrogens and is used for estrogen deficiency disorders. Estrogens affect anxiety through neurochemical systems such as GABA-A receptors. In this study the effects of fennel on GABA-A and estrogen receptors in anxiety were investigated.

Methods: Adult female Wistar rats weighing (180 ± 20 g) were divided into 8 groups. Groups received saline, fennel (200, 500, 750 mg/kg), tamoxifen (15 mg/kg) + fennel (500 mg/kg), picrotoxin (1 mg/kg) + fennel (500 mg/kg). A control group was also used. Elevated plus maze was used for evaluation of anxiety by measuring the time spent in the open arm. All drugs were administered intraperitoneally.

Results: The results showed that fennel only at the dose of 500 mg/kg had significant anxiolytic effects and increased the time spent in open arms ($P < 0.01$). Picrotoxin (GABA-A antagonist) significantly prevented anxiolytic effect of 500 mg/kg of fennel ($P < 0.001$). Tamoxifen, an estrogen receptor antagonist, also abolished the anxiolytic effect of fennel ($P < 0.001$).

Conclusion: Fennel reduced anxiety in rats and picrotoxin, a non-competitive antagonist of GABA-A receptors, as well as tamoxifen, an antagonist/agonist of estrogen receptors, reduced this anxiolytic effect. Thus fennel as a herbal drug seems to have an anxiolytic effect and it probably acts through GABA-A and estrogen receptors.

Key words: Anxiety, Fennel, Tamoxifen, Picrotoxin, Elevated Plus Maze

* Corresponding author e-mail: sarapourabbas@yahoo.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

بررسی اثرات ضد اضطرابی گیاه رازیانه و نقش احتمالی سیستم گابا آرژیک و گیرنده‌های استروژن در این اثرات در موشهای صحرایی ماده

سارا پورعباس^{۱*}، دکتر مهناز کسمتی^۱، دکتر عبدالرحمن راسخ^۲

۱. بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز

۲. دانشکده علوم کامپیوتر و ریاضی، دانشگاه شهید چمران، اهواز

پذیرش: ۱۸ دی ۸۹

دریافت: ۲۳ مرداد ۸۹

چکیده

مقدمه: رازیانه بدلیل داشتن فیتواستروژن کاربرد درمانی وسیعی در رفع اختلالات ناشی از کمبود استروژن دارد. استروژن ها نیز از هورمونهای موثر در پدیده اضطراب می‌باشند که به نظر می‌رسد از طریق سیستم‌های نوروشیمیایی مانند گیرنده‌های گابا-A عمل نمایند. در این مطالعه اثر اسانس رازیانه در فعال کردن و غیرفعال کردن گیرنده‌های استروژن و گابا-A بر میزان اضطراب مورد بررسی قرار گرفته است.

روش‌ها: بدین منظور از موش صحرایی بالغ ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 180 که در ۸ گروه: دریافت‌کننده سالین، اسانس رازیانه ($750, 200, 500$ mg/kg)، تاموکسیفن (15 mg/kg) + رازیانه (500 mg/kg)، پیکروتوکسین (1 mg/kg) + رازیانه (500 mg/kg) و گروههای کنترل آنها تقسیم شدند، استفاده شد. از ماز بعلاوه مرتفع جهت ارزیابی اضطراب با تعیین میزان مدت حضور در بازوی باز استفاده شد. کلیه داروها بصورت تزریق داخل صفاقی تجویز شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که رازیانه فقط در دوز (500 mg/kg) با افزایش مدت حضور در بازوی باز اثر ضد اضطرابی قابل ملاحظه‌ای را ایجاد نمود ($p < 0.01$). پیکروتوکسین (آنتاگونیست گیرنده‌های گابا-A) بطور قابل ملاحظه‌ای مانع از اثر ضد اضطرابی رازیانه شد ($p < 0.001$). تاموکسیفن (آنتاگونیست گیرنده‌های استروژن) مانع از اثر ضد اضطرابی رازیانه (500 mg/kg) شد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه رازیانه توانسته اضطراب را در راتها کاهش دهد و پیکروتوکسین، مهار کننده غیر رقابتی گیرنده گابا A، و تاموکسیفن، آگونیست/آنتاگونیست گیرنده های استروژن، این اثر ضد اضطرابی را تقلیل داده اند، لذا رازیانه احتمالا بعنوان یک داروی گیاهی دارای اثرات ضد اضطرابی است که اثراتش با واسطه تأثیر بر سیستم گابا آرژیک و گیرنده های استروژن می باشد.

واژه‌های کلیدی: اضطراب، رازیانه، تاموکسیفن، پیکروتوکسین، ماز بعلاوه مرتفع

مقدمه

گیرنده مانند گابا، سروتونین و هورمونهای مانند کاتکل آمین‌ها و هورمونهای جنسی در تعدیل آن نقش دارد [۱۰]. گابا A مهمترین نوروترانسمیتر مهار می باشد [۱۵] که گیرنده آن کمپلکس پروتئینی شامل یک پنتامر $\alpha_2\beta\gamma$ اطراف یک منفذ است که جایگاه اتصال گابا بین زیر واحد α و β می باشد [۷]. اتصال گابا به گیرنده، کانال کلر را باز می کند و باعث مهار و هیپرپلاریزاسیون نورون می شود. پیکروتوکسین آنتاگونیست

اضطراب از اختلالات روانی رایج در انسان است که خطری نامعلوم و مبهم را تداعی می کند [۱۴]. در این پدیده چندین

* نویسنده مسئول مکاتبات: sarapourabbas@yahoo.com

وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

گیاهی سرشار از فیتواستروژنها از جمله لیگنان می‌باشد [۲۸]. این گیاه در درمان دردهای دیسمنوره و دردهای گوارشی [۲۲]، اثر بر رشد بیضه‌ها، افزایش وزن غدد پستانی [۱۹]، درمان پوکی استخوان [۱۲]، درمان پرمویی [۱۳] بکار می‌رود که دال بر اینست رازیانه گیاهی است که بعنوان عامل استروژنی استفاده می‌شود.

همانطور که اشاره شد، مطالعات نشان داده است استروژنها و فیتواستروژنها دارای خاصیت ضد اضطرابی هستند [۱۶] و رازیانه نیز گیاهی حاوی فیتواستروژن است [۲۸] شاید بتوان شواهد مربوط به فیتواستروژنها را بدان تعمیم داد. لذا با توجه به اینکه رازیانه دارای اثرات متنوع در طب سنتی بوده و از طرفی تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثرات احتمالی آن بر روی اضطراب صورت نگرفته است و نیز به علت ارزان بودن این گیاه و اینکه به راحتی در اکثر نقاط ایران می‌روید و قابل دسترسی است و در نهایت بطور معمول داروهای شیمیایی مورد استفاده در اختلالات اضطرابی دارای عوارض جانبی می‌باشند و امروزه اختلالات اضطرابی رو به افزایش است، تحقیق و جستجو برای یافتن داروهای با عوارض جانبی کمتر ادامه دارد. لذا در این پژوهش بر آن شدیم اثر گیاه رازیانه را بر اضطراب مورد بررسی قرار داده و بدلیل اینکه به نظر می‌رسد از طریق فیتواستروژنها بر اضطراب موثر باشد با توجه به خاصیت آگونیستی و آنتاگونیستی فیتواستروژنها نسبت به گیرنده‌های استروژن [۱۸] هدف این تحقیق نیز بررسی مکانیسم اثر آن نسبت به گیرنده‌های استروژنی (با استفاده از آنتاگونیست آنها) بوده است و با توجه به احتمال تداخل فیتواستروژنها و تغییر عمل گیرنده‌های گابا [۶] اثر گیاه رازیانه را در فعال و غیرفعال - کردن گیرنده‌های گابا (با بکارگیری پیکروتوکسین، آنتاگونیست آن) بر اضطراب نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از موشهای صحرایی ماده بالغ آلبینو نژاد ویستاربا وزن 20 ± 18 گرم استفاده گردید. حیوانات پس از انتقال به خانه حیوانات در گروههای ۷ تایی و تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند و به آب و غذا دسترسی آزاد داشتند.

غیررقابیتی گیرنده گابا می‌باشد و بدلیل اینکه بطور موثری جریان کلر در این گیرنده را مهار می‌کند یک بلوک کننده عمومی می‌باشد و باعث افزایش اضطراب در تست ماز بعلاوه می‌گردد [۲۳].

فعالیت ژنومی استروژن نیز بوسیله دو گیرنده درون سلولی انجام می‌شود و بعنوان فاکتورهای رونویسی فعال کننده لیگاند عمل می‌کنند که ER_{α} و ER_{β} نام دارد. فعالیت گیرنده بتا باعث کاهش اضطراب در گونه‌های مختلف می‌شود [۳۰]. مدوله - کننده‌های انتخابی گیرنده استروژن مانند تاموکسیفن بسته به نوع بافت مورد هدف دارای فعالیت استروژنی و ضد استروژنی هستند [۱۷].

فیتواستروژنها ترکیبات پلی فنولیک غیراستروئیدی هستند که اثراتی شبیه استروژن ایجاد می‌کنند و بطور انتخابی به گیرنده‌های آلفا و بتای استروژنی متصل می‌شوند و تمایل آنها برای اتصال به ER_{β} می‌باشد [۱۸]. فیتواستروژنها مانند مدوله - کننده طبیعی انتخابی گیرنده استروژن عمل می‌کنند، در بعضی موارد بعنوان آگونیست و در بعضی موارد بعنوان آنتاگونیست عمل می‌کند که قابل مقایسه با تاموکسیفن می‌باشد [۱۱]. فعالیت گیرنده گابا از طریق استروئیدهای جنسی با کاهش اضطراب در ارتباط است [۶]. در یک بررسی موشه‌هایی که با غذای غنی از فیتواستروژن (سویا) تغذیه شدند کاهش در میزان اضطراب داشتند و مشخص شد فیتواستروژنها مانند استروژن توسط گیرنده گابا A عمل می‌کنند [۱۶]. مصرف فیتواستروژنها در درمان بیماری‌های وابسته به سن مانند بیماری‌های قلبی، پوکی استخوان، سرطان سینه و پروستات و علائم یائسگی مانند گرگرفتگی کاربرد دارد. فیتواستروژنها از جمله لیگنان و ایزوفلاون‌ها اثرات ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدقارچی نیز دارند [۵].

رازیانه گیاهی با نام علمی *Foeniculum vulgare* و از خانواده چتریان است. این گیاه علفی، معطر و به ارتفاع ۱ تا ۲ متر است که در مناطق زیادی از اروپا، مدیترانه، آسیا می‌روید. گیاه رازیانه چندساله دارای برگهای سبز تیره پرزدار، با پهنک منقسم به قطعات نازک، گل‌های زرد رنگ بصورت چتر مرکب با دانه‌های تخم‌مرغی شکل می‌باشد [۱]. ترکیبهای شاخص این گیاه ترانس آنتول، لیمونن، فنچون هستند. میوه رازیانه بهترین اندام برای استخراج ترانس آنتول می‌باشد [۲]. رازیانه

اندازه‌گیری اضطراب مدت حضور در بازوی باز است. هرچه مدت حضور در این بازو بیشتر باشد، نشان‌دهنده کاهش اضطراب می‌باشد. ورود هر دو پای عقبی حیوان، معیار ورود و خروج به بخش‌های مختلف دستگاه در نظر گرفته می‌شد و از هر حیوان فقط یک‌بار در آزمایش استفاده شد تا هیچگونه یادگیری صورت نگیرد. پس از اتمام هر تست تمام قسمت‌های دستگاه که با موش در تماس بود، بوسیله پنبه و الکل تمیز و سپس خشک گردید. در این دستگاه تعداد ورود به بازوی بسته بدون توجه به اضطراب یک نشانه قابل اطمینان از فعالیت حرکتی می‌باشد [۲۶].

به منظور تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن داده‌های خام از نرم‌افزار SPSS و براساس آزمون ANOVA LSD, Post Hoc Tests استفاده شد. حداقل سطح معنی‌داری با $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. همه نمودارها بصورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند.

یافته‌ها

اثر اسانس رازیانه بر میزان اضطراب و فعالیت حرکتی در تست ماز بعلاوه مرتفع: شکل ۱ نشان‌دهنده مقایسه مدت حضور در بازوهای باز (شاخص اضطراب) بین گروه‌های دریافت‌کننده سالیین، رازیانه ۲۰۰ mg/kg و ۵۰۰ و ۷۵۰ می‌باشد. تنها گروه دوز ۵۰۰ با $(P < 0.01)$ افزایش معنی‌دار در مدت حضور در بازوی باز نسبت به گروه سالیین نشان داد. شکل ۲ نشان‌دهنده مقایسه تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت حرکتی) بین گروه‌های سالیین، رازیانه ۲۰۰ mg/kg و ۵۰۰ و ۷۵۰ می‌باشد. هر سه گروه دریافت‌کننده دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ و ۷۵۰ نسبت به گروه سالیین تفاوت معنی‌دار نشان ندادند.

اثر پیکروتوکسین و تاموکسیفن بر میزان اضطراب و فعالیت حرکتی در تست ماز بعلاوه مرتفع: در شکل ۳ گروه دریافت‌کننده پیکروتوکسین ۱ mg/kg کاهش معنی‌داری با $(P < 0.01)$ و گروه تاموکسیفن ۱۵ mg/kg کاهش معنی‌داری با $(P < 0.05)$ از نظر مدت حضور در بازوی باز نسبت به گروه سالیین نشان داد.

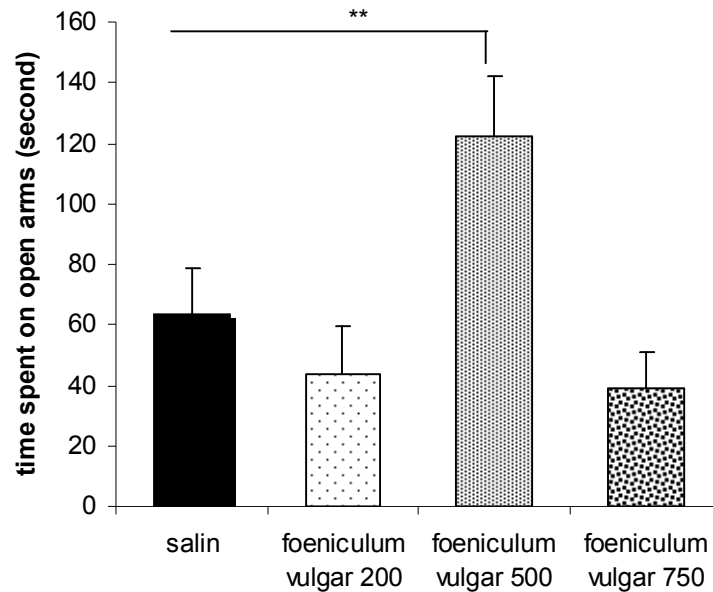
در شکل ۴ گروه پیکروتوکسین نسبت به گروه سالیین با $(P < 0.001)$ کاهش معنی‌داری در تعداد ورود به بازوی

اسانس رازیانه از کارخانجات باریج اسانس ایران - کاشان، پیکروتوکسین ساخت سیگما، تاموکسیفن از شرکت ایران هورمون تهیه گردیدند. رازیانه با مقادیر ۲۰۰ mg/kg [۲] و ۵۰۰ [۲۴] و ۷۵۰ [۱۲] که جهت حلالیت بهتر در مقدار اندکی الکل ۹۰ درجه حل شد و با سالیین به حجم ۱۰ CC رسانده شد. پیکروتوکسین ۱ mg/kg نیز در سالیین حل شد و به حجم ۱۰ CC رسانده شد [۸].

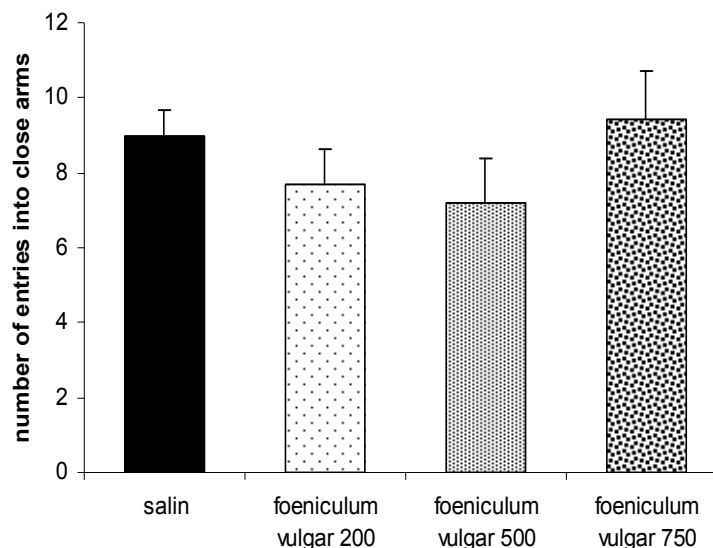
تاموکسیفن ۱۵ mg/kg ابتدا در مقدار اندکی الکل ۹۶ درجه حل گردید و با سالیین به حجم ۱۰ CC رسانده شد [۲۹ و ۲۰]. همچنین برای اثبات اینکه الکل اثری بر میزان اضطراب حیوانات نداشت، به یک گروه ۷ تایی از موشها الکل که با سالیین به حجم رسانده شد تجویز گردید، اما این گروه در مقایسه آماری با گروه سالیین تفاوت معنی‌دار نشان ندادند. در این تحقیق کلیه دارو ها به صورت داخل صفاقی تزریق شدند و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق دارو، حیوان به مدت ۵ دقیقه تست شد. گروه بندی حیوانات: ۱- گروه دریافت‌کننده سالیین (10 ml/kg) ۲- گروه دریافت‌کننده رازیانه (200 mg/kg)، ۳- گروه دریافت‌کننده رازیانه (500 mg/kg)، ۴- گروه دریافت‌کننده رازیانه (750 mg/kg)، ۵- گروه دریافت‌کننده پیکروتوکسین (1 mg/kg)، ۶- گروه دریافت‌کننده تاموکسیفن (15 mg/kg)، ۷- گروه دریافت‌کننده پیکروتوکسین (1 mg/kg) + رازیانه (500 mg/kg)، ۸- گروه دریافت‌کننده تاموکسیفن (15 mg/kg) + رازیانه (500 mg/kg).

تست ماز بعلاوه مرتفع (Elevated Plus Maze) یک مدل غیرشرطی برای تولید و سنجش اضطراب و تعیین اثرات اضطراب‌زایی و ضد اضطرابی داروهاست. این دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته مقابل هم است (۴۰ cm طول، ۱۰ cm پهنا) و دیوارهای بسته توسط دیوار ۴۰ cm احاطه شده و در مرکز نیز مربع ۱۰ × ۱۰ cm قرار گرفته است. این وسیله ۵۰ cm بالاتر از سطح زمین به صورتی قرار می‌گیرد و یک لامپ ۴۰ وات در بالای آن به ارتفاع یک متر تعبیه شده است. در ابتدای تست، هر موش در وسط دستگاه بطوریکه سر آن به طرف بازوی باز باشد، قرار داده و به مدت پنج دقیقه تست انجام شد.

وقتی حیوان وارد بازوی باز شود، با دیدن ارتفاع ترسیده و به سرعت به سمت بازوی بسته می‌رود. بهترین معیار برای



شکل ۱- مقایسه مدت حضور در بازوی باز (شاخص اضطراب) بین گروه سالین و دوزهای ۲۰۰ و ۵۰۰ و ۷۵۰ رازیانه در تست ماز بعلاوه مرتفع مربوط به جنس ماده. فقط بین گروه دوز ۵۰۰ و گروه سالین با ($P < 0.01$) تفاوت معنی دار مشاهده شد ($n=7$).



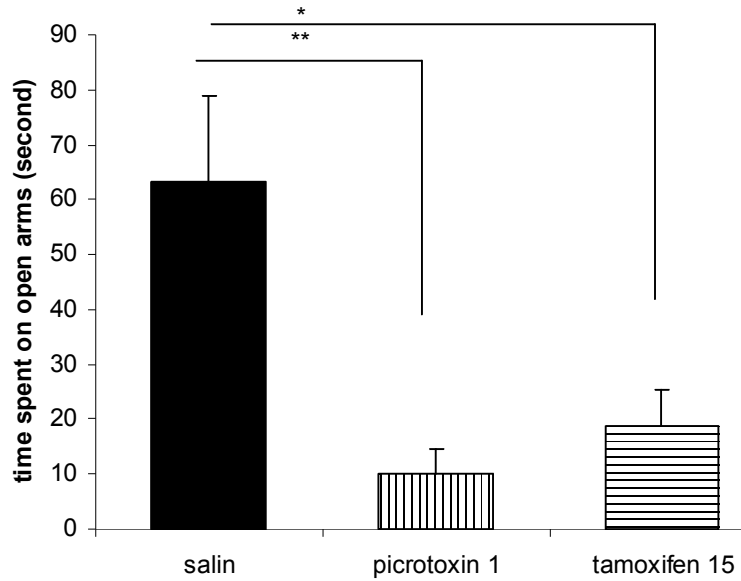
شکل ۲- مقایسه تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت حرکتی) بین گروه سالین و گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۲۰۰ و ۵۰۰ و ۷۵۰ رازیانه در تست ماز بعلاوه مرتفع مربوط به جنس ماده. در هر سه دوز نسبت به گروه دریافت کننده سالین تفاوت معنی دار نمی باشد ($n=7$).

بعلاوه مرتفع: در شکل ۵ گروه دریافت کننده پیکروتوکسین + رازیانه ۵۰۰ کاهش معنی داری در مدت حضور در بازوی باز (شاخص اضطراب) با ($P < 0.001$) نسبت به گروه دریافت کننده رازیانه ۵۰۰ نشان داد.

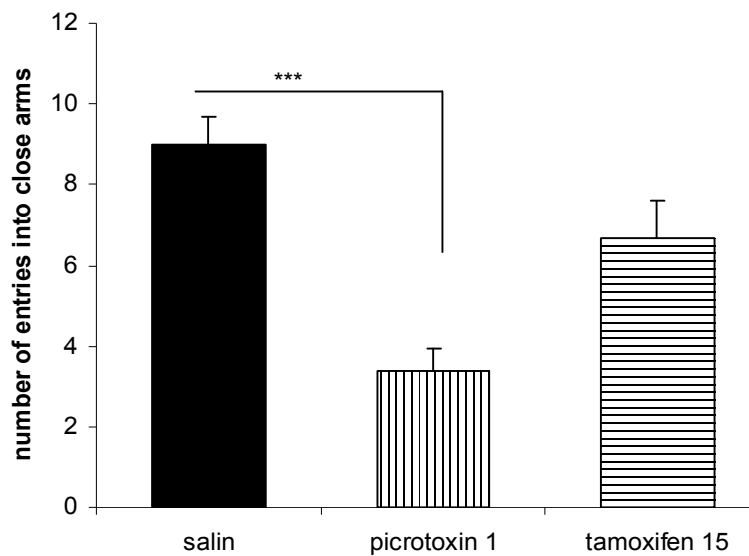
همچنین در مقایسه بین گروه‌های سالین و پیکروتوکسین با گروه پیکروتوکسین + رازیانه ۵۰۰ فقط بین گروه‌های سالین و پیکروتوکسین + رازیانه ۵۰۰ تفاوت معنی دار با ($P < 0.05$) مشاهده شد. در این شکل نیز گروه تاموکسیفن + رازیانه ۵۰۰

بسته نشان می دهد و بین گروه سالین و تاموکسیفن تفاوت معنی داری مشاهده نشد. بدین ترتیب پیکروتوکسین در دوز مورد نظر اثر اضطراب زایی دارد و احتمالاً این اثر را از طریق کاهش فعالیت حرکتی اعمال می کند و تاموکسیفن در دوز مورد نظر اثر اضطراب زایی در موشهای ماده دارد و این اثر را از طریق تغییر فعالیت حرکتی اعمال نموده است.

اثر رازیانه در فعال کردن و غیرفعال کردن گیرنده های GABA_A و بتاستروژن بر میزان اضطراب و فعالیت حرکتی در تست ماز



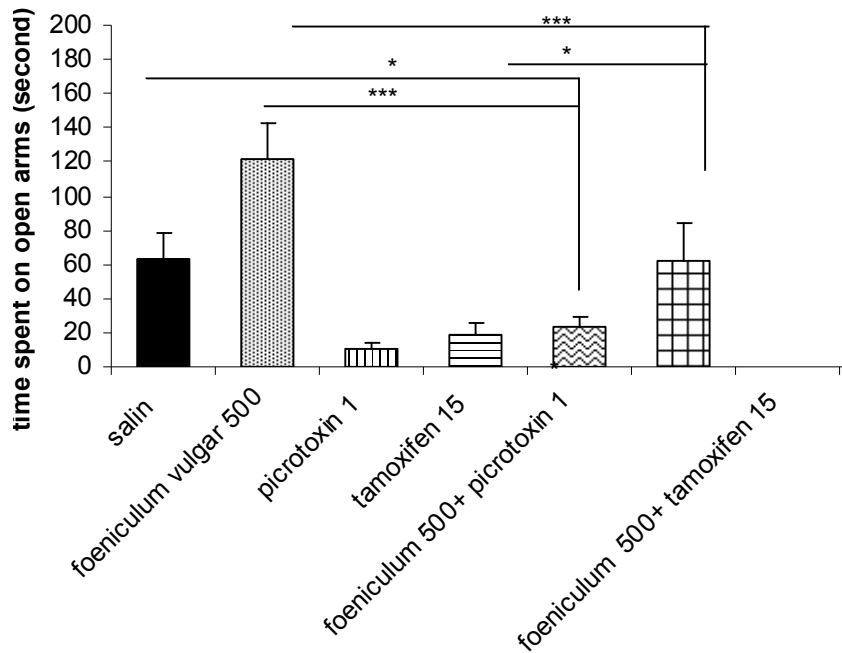
شکل ۳- مقایسه مدت حضور در بازوی باز (شاخص اضطراب) بین گروه دریافت کننده سالین و گروه پیکروتوکسین ۱ mg/kg و تاموکسیفن ۱۵ mg/kg در تست ماز بعلاوه مرتفع مربوط به جنس ماده. بین گروه سالین و گروه پیکروتوکسین با ($P < 0.01$) و بین گروه سالین و تاموکسیفن با ($P < 0.05$) تفاوت معنی دار وجود دارد (n=7).



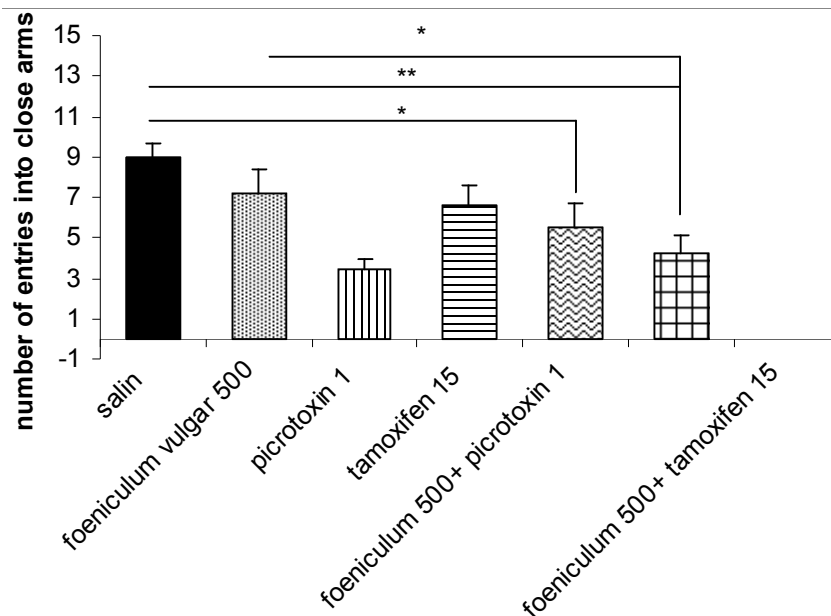
شکل ۴- مقایسه تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت حرکتی) بین گروه سالین و گروه پیکروتوکسین ۱ mg/kg و گروه تاموکسیفن ۱۵ mg/kg در تست ماز بعلاوه مرتفع مربوط به جنس ماده. بین گروه سالین و گروه پیکروتوکسین با ($P < 0.001$) تفاوت معنی دار وجود دارد. بین گروه سالین و گروه تاموکسیفن تفاوت معنی دار وجود ندارد (n=7).

حرکتی) نشان داد اما در مقایسه بین گروههای رازیانه ۵۰۰ و پیکروتوکسین با گروه پیکروتوکسین + رازیانه ۵۰۰ تفاوت معنی دار مشاهده نشد. در این شکل نیز گروه تاموکسیفن + رازیانه ۵۰۰ کاهش معنی داری با ($P < 0.05$) در تعداد ورود به بازوی بسته نسبت به گروه رازیانه ۵۰۰ نشان داد. همچنین بین گروه تاموکسیفن + رازیانه ۵۰۰ با سالین کاهش معنی دار با ($P < 0.01$) (n=7).

کاهش معنی داری با ($P < 0.001$) در مدت حضور در بازوی باز نسبت به گروه رازیانه ۵۰۰ نشان داد. همچنین در مقایسه گروههای سالین و تاموکسیفن با گروه تاموکسیفن + رازیانه ۵۰۰ بین گروه تاموکسیفن و تاموکسیفن + رازیانه ۵۰۰ تفاوت معنی دار با ($P < 0.05$) وجود دارد (n=7). در شکل ۶ گروه دریافت کننده پیکروتوکسین + رازیانه ۵۰۰ کاهش معنی داری با ($P < 0.05$) نسبت به گروه دریافت کننده سالین در تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت



شکل ۵- مقایسه مدت حضور در بازوی باز (شاخص اضطراب) بین گروه دریافت کننده پیکروتوکسین +رازایانه ۵۰۰ با گروههای سالین، رازیانه ۵۰۰ و پیکروتوکسین و همچنین مقایسه بین گروه تاموکسیفن+رازایانه ۵۰۰ با گروههای سالین، رازیانه ۵۰۰ و تاموکسیفن در تست ماز بعلاوه مرتفع مربوط به جنس ماده. گروه پیکروتوکسین +رازایانه ۵۰۰ کاهش معنی داری با ($***P</math> /۰۰۱) نسبت به گروه رازیانه ۵۰۰ نشان داد. همچنین در مقایسه بین گروههای سالین و پیکروتوکسین با گروه پیکروتوکسین +رازایانه ۵۰۰ فقط بین گروههای سالین و پیکروتوکسین+رازایانه ۵۰۰ تفاوت معنی دار با ($*P<$ /۰۰۵) مشاهده شد. گروه تاموکسیفن+رازایانه ۵۰۰ کاهش معنی داری با ($***P<$ /۰۰۱) در مدت حضور در بازوی باز نسبت به گروه رازیانه ۵۰۰ نشان داد. همچنین در مقایسه گروههای سالین و تاموکسیفن با گروه تاموکسیفن +رازایانه ۵۰۰ بین گروه تاموکسیفن و تاموکسیفن +رازایانه ۵۰۰ تفاوت معنی دار با ($*P<$ /۰۰۵) وجود دارد ($n=7$).$



شکل ۶- مقایسه تعداد ورود به بازوی بسته (شاخص فعالیت حرکتی) بین گروه دریافت کننده پیکروتوکسین +رازایانه ۵۰۰ با گروههای سالین، رازیانه ۵۰۰ و پیکروتوکسین و همچنین مقایسه بین گروه تاموکسیفن+رازایانه ۵۰۰ با گروههای سالین، رازیانه ۵۰۰ و تاموکسیفن در تست ماز بعلاوه مرتفع مربوط به جنس ماده. گروه پیکروتوکسین +رازایانه ۵۰۰ کاهش معنی داری با ($*P<$ /۰۰۵) نسبت به گروه سالین نشان داد. همچنین در مقایسه بین گروههای رازیانه ۵۰۰ و پیکروتوکسین با گروه پیکروتوکسین +رازایانه ۵۰۰ تفاوت معنی دار مشاهده نشد. گروه تاموکسیفن+رازایانه ۵۰۰ کاهش معنی داری با ($*P<$ /۰۰۵) در تعداد ورود به بازوی بسته نسبت به گروه رازیانه ۵۰۰ نشان داد. همچنین بین گروه تاموکسیفن +رازایانه ۵۰۰ با سالین کاهش معنی دار با ($**P<$ /۰۰۱) ($n=7$) مشاهده می شود.

بحث

بر طبق نتایج گروه دریافت کننده دوز ۵۰۰ mg/kg رازیانه افزایش معنی داری در مدت حضور در بازوی باز نسبت به گروه سالیین نشان داد، اما هیچکدام از سه دوز ۲۰۰ و ۵۰۰ و ۷۵۰ تفاوت معنی داری در تعداد ورود به بازوی بسته نشان ندادند. اگرچه تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با اثرات ضداضطرابی رازیانه صورت نگرفته است اما تحقیقات نشان می‌دهد این گیاه دارای خواص متعدد درمانی است که می‌تواند تا اندازه‌ای توجیه کننده اثر ضد اضطرابی آن باشد. مطالعات حاکی است عصاره آبی میوه رازیانه سبب کاهش درد حاد و مزمن (افزایش بی‌دردی) به دنبال تزریق فرمالین می‌شود [۳]. در تحقیقی به منظور بررسی اثر اسانس رازیانه روی مهار انقباضات ناشی از اکسی‌توسین و پروستاگلاندین E₂ در رحم جلداده موش صحرایی نیز نشان داده شد که این اسانس قادر است تواتر و شدت انقباضات رحمی را کاهش دهد. در این مطالعه از اکسی‌توسین و پروستاگلاندین برای القا انقباضات استفاده شد. در این تحقیق نشان داده شد این اثر در نتیجه فعالیت استروژنی رازیانه می‌باشد و باعث مهار اسپاسم در ماهیچه صاف می‌گردد. در این بررسی LD₅₀ ۱۳۲۶ mg/kg تخمین زده شد. برای سم‌شناسی طی ۲۴ ساعت حیوانات مصرف کننده دوز ۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ mg/kg رازیانه مردند. همچنین حیوانات دریافت کننده دوز ۱۵۰۰ دچار مشکلات حرکتی و ضعف پاهای عقبی شدند. شدت سمیت در دوزهای ۱۳۷۵ mg/kg و ۱۲۵۰ و ۱۱۲۵ کاهش یافت [۲۴]. در یک مطالعه موشهای نر و ماده دست نخورده مصرف کننده رژیم غنی از فیتواستروژن (سویا) مدت حضور در بازوی باز بطور معنی داری در هر دو جنس نر و ماده نسبت به موشهای مصرف کننده رژیم فاقد فیتواستروژن افزایش یافت و کاهش در میزان اضطراب داشتند [۱۶]. این نتایج با تحقیق حاضر با استعمال دوز 500mg/kg رازیانه همسو می‌باشد.

تحقیقات نشان می‌دهد که در بیماری دو قطبی استعمال لیتیم و والپورات کاهش چشمگیری در تولید پروتئین کیناز C می‌کند. در یک مطالعه تاموکسیفن بعنوان مهار کننده پروتئین کیناز C اثرات ضد حملات جنون (مانیک) دارد. سیگنالهای پروتئین کیناز C نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی و درمان بیماران دو قطبی دارد و آنزیمی است که فعالیت نورونهای مغز را تنظیم

می‌کند. پروتئین کیناز C طی حملات مانیک در بیماران دو قطبی بسیار فعال می‌شود و از آنجا که فیتواستروژنها مانند تاموکسیفن بعنوان تعدیل کننده انتخابی رسپتور استروژن عمل میکنند، این خاصیت مشترک آنها میتواند توجیه کننده این مطلب باشد که ممکن است خاصیت ضداضطرابی رازیانه از طریق این مسیر باشد [۹].

نتایج ما نشان داد گروه دریافت کننده پیکروتوکسین کاهش معنی داری از نظر مدت حضور در بازوی باز و تعداد ورود به بازوی بسته نسبت به گروه سالیین نشان داد. بنابراین پیکروتوکسین در دوز مورد نظر اثر اضطراب‌زایی دارد و احتمالاً این اثر را از طریق کاهش فعالیت حرکتی اعمال می‌کند. در یک مطالعه استعمال پیکروتوکسین، فعالیت حرکتی مانند سر-دست بلند شدن در تست میدان باز و سطح اکتشاف سوراخها در تست Hole-board را بطور معنی داری کاهش داد. همچنین مدت حضور و تعداد ورود به بازوی باز در ماز بعلاوه کاهش یافت [۲۷] که همسو با مطالعات حاضر می‌باشد.

در این تحقیق تاموکسیفن باعث کاهش معنی داری با از نظر مدت حضور در بازوی باز نسبت به گروه کنترل گردید و حیوانات اضطراب بیشتری از خود نشان دادند. تحقیقات نشان داده است دوز ۱۵ mg/kg موثرترین دوز این دارو می‌باشد و گیرنده استروژن در مغز موش را بلوک می‌کند [۲۰]. همچنین حیوانات تیمار شده با تاموکسیفن افزایش معنی داری در میزان اضطراب در مقایسه با حیوانات دریافت کننده جایگزین‌های استروژن در تست ماز بعلاوه نشان دادند. این مطالعه حاکی از این است که تاموکسیفن اضطراب‌زا می‌باشد [۲۱]. درخصوص تاثیر تاموکسیفن بر فعالیت حرکتی، تحقیقات اندکی انجام شده است. نقش بازدارندگی تاموکسیفن با تکیه بر خاصیت آنتی‌استروژنیک آن و تأثیری است که استروژن بر فعالیت حرکتی دارد [۲۵]. در یک مطالعه تاموکسیفن در دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موشهای ماده باعث کاهش حرکات سریع و آرام شده و در سایر دوزها اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد [۴]. در تحقیق حاضر مشاهده می‌گردد تاموکسیفن در دوز مورد نظر اثر اضطراب‌زایی دارد و این اثر را از طریق تغییر فعالیت حرکتی اعمال نموده است. شاید علت این بی‌تأثیری در فعالیت حرکتی دوز داروی فوق می‌باشد که در این تحقیق بکار برده شده است.

به اینکه پیشتر نشان دادیم تجویز تاموکسیفن به تنهایی در دوز مورد نظر ضمن ایجاد اثر اضطراب زایی، تغییری در فعالیت حرکتی ایجاد نمود اما در حضور رازیانه کاهش فعالیت حرکتی مشاهده شد. در این رابطه، به نظر می رسد با غیر فعال شدن گیرنده های استروژنی توسط تاموکسیفن، سایر عوامل و یا فاکتورهای موجود در رازیانه باعث تغییر فعالیت حرکتی شده اند که برای اثبات این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتری می باشد. بطور خلاصه میتوان نتیجه گیری نمود که رازیانه در یک دوز مشخص اثر ضداضطرابی در تست ماز بعلاوه مرتفع دارد و این اثر را بدون تغییر در فعالیت حرکتی اعمال می کند و از سوی دیگر بلوک گیرنده های گابا A و استروژن توسط پیکروتوکسین و تاموکسیفن در موشهای ماده اثر اضطراب زایی ایجاد می نماید و رازیانه احتمالاً بخشی از اثر ضداضطرابی خود را در موشهای ماده از طریق گیرنده های گابا A و بخش دیگری را از طریق گیرنده های استروژنی اعمال می کند و بنظر می رسد یک نوع همپوشانی در عملکرد این دو گیرنده مشاهده می شود.

سپاسگزاری

از گروه زیست شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز جهت همکاریهای بعمل آمده در طی اجرای پژوهش کمال تقدیر و تشکر بعمل می آید.

References

- [۱] زرگری ع، گیاهان دارویی، انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، جلد ۲، (۱۳۷۶) ۵۵۴.
- [۲] سفید کن ف، بررسی کمی و کیفی رازیانه در مراحل مختلف رشد، *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۱۰ (۱۳۸۰) ۸۵ تا ۱۰۴.
- [۳] طاهریان ع، دهقانان م، وفایی ع، صادقی ح، میلادی گرجی ح، بررسی اثر عصاره آبی میوه گیاه رازیانه بر تعدیل درد نورونیک و درد التهابی در موش سوری در مدل ارزیابی درد فرمالین، *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان*، ۱۲ (۱۳۸۶) ۳۵ تا ۲۸.
- [۴] نقش جواهری م، کسیمی م، پیله وریان ع، اثر فیتواستروژنی گل بابونه و ارتباط آن با استروژنهای درون زا بر فعالیت حرکتی در تست میدان باز، *فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۲۴ (۱۳۸۷) ۵۱۹ تا ۵۲۹.

در این تحقیق نشان دادیم که بلوک گیرنده های گابا A توسط پیکروتوکسین از خاصیت ضداضطرابی رازیانه در دوز ۵۰۰ mg/kg ممانعت نمود و کاهش معنی داری در شاخص فعالیت حرکتی ایجاد نمود. میتوان نتیجه گیری نمود که بخشی از اثر ضداضطرابی رازیانه در جنس ماده از طریق گیرنده های گابا A می باشد. با توجه به وجود ترکیبات فیتواستروژن در رازیانه شواهدی در تایید این نتیجه میتوان یافت. تعدادی از عصاره های گیاهی نیز اثرات ضداضطرابی از خود نشان می دهند که به نظر می رسد خاصیت ضداضطرابی این عصاره های گیاهی مربوط به خواص شبه استروژنی آنها باشد. همچنین احتمال می رود که خواص ضداضطرابی این عصاره های گیاهی با واسطه تغییر در گیرنده گابا A صورت گیرد [۱۶].

در پژوهش حاضر بلوک گیرنده های استروژنی در جنس ماده توسط تاموکسیفن باعث مهار اثر ضداضطرابی رازیانه در دوز ۵۰۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل شد، اما این اثر همراه با کاهش فعالیت حرکتی بود. در مطالعه حاضر، اثر ممانعتی تاموکسیفن بر رازیانه قابل انتظار بود زیرا بلوک گیرنده های استروژن توسط تاموکسیفن مانع از اثر ترکیبات فیتواستروژنیک رازیانه بر گیرنده های استروژنیک بوده است. همچنانکه اشاره شد فیتواستروژن ها گروهی از ترکیبات پلی فنولیک غیر استروئیدی هستند که اثراتی شبیه استروژن ایجاد می کنند و از طریق گیرنده بتا استروژن عمل می کند [۱۸]. اما با توجه

- [5] Appt S E, Usefulness of the monkey model to investigate the role of soy in postmenopausal womans health. *ILAR J* 45 (2004) 200-211.
- [6] Blasi C, Influence of benzodiazepines on body weight and food intake in obese and lean Zucker rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 24 (2000) 561-577.
- [7] Colquhoun D, Sivillotti L G, Function and structure in glycine receptors and some of their relatives. *Trends Neurosci* 27 (2004) 337-44.
- [8] Costa-Campos L, Lara D R, Nunes D S, Elisabetsky E, Antipsychotic-like profile of alstonine. *Pharmacol Biochem Behav* 60 (1998) 133-41.
- [9] Einat H, Yuan P, Szabo S T, Dogra S, Manji H K, Protein kinase C inhibition by Tamoxifen Antagonizes Manic -Like Behavior in rats :Implication for the

- development of Novel Therapeutics for Bipolar Disorder. *Neuro psychobiol* 55 (2007) 123-131.
- [10] Enoch M A, The role of GABA_A receptor in the development of alcoholism. *Pharmacol Biochem Behav* 90 (2008) 95-104.
- [11] Halbreich U, Kahn L S, Selective oestrogen receptor modulators current and future brain and behavior applications. *Expert Opin Pharmacother* 1 (2000) 1385-1398.
- [12] Jaffary F, Ghannadi A, Najafzadeh H, Evaluation of the Prophylactic Effect of Fennel Essential Oil on Experimental Osteoporosis Model in Rats. *Int J Pharmacol* 2 (2006) 588-592.
- [13] Javidnia K, Dastgheib L, Mohammadi Samani S, Nasiri A, Antihirsutism activity of Fennel (Fruits of *Foeniculum vulgare*) extract, A double – blind placebo controlled study. *Phytomedicine* 10 (2003) 455-8.
- [14] Johnston G A R, Chebib M, Hanrahan J R, Mewett K, GABA_C receptors as drug targets. *Curr Drug Targets-CNS* 2 (2003) 260-8.
- [15] Kittler J T, Moss S J, Modulation of GABA_A receptor activity by phosphorylation and receptor trafficking: implications for the efficacy of synaptic inhibition. *Curr Opin in Neurobiol* 13 (2003) 341-7.
- [16] Lund T D, Lephart E D, Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effect in the elevated plus-maze. *Brain Res* 913 (2001) 180-184.
- [17] Lundy M, Di Paolo T, Effect of chronic estradiol, tamoxifen or raloxifen treatment on serotonin 5-HT_{1A} receptor. *Mol Brain Res* 112 (2003) 82-89.
- [18] MacLusky N J, Mechanisms of gonadal steroid action. New concepts in hormone management: Selective estrogen receptor modulators. *J Obstet Gynaecol* (1997) 4-20.
- [19] Malini T, Vanitha Kumari G, Megala N, Anusya S, Devi K, Elango V, Effect of *Foeniculum vulgare* Mill: seed extract on the genital organs of male and female rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 29 (1985) 21-6.
- [20] Merchenthaler I, Funkhouser J M, Carver J M, Lundeen S G, Ghosh K, Winneker R C, The effect of estrogens and antiestrogens in a rat model for hot flush. *Maturitas* 30 (1998) 307-316.
- [21] Mook D, Felger J, Grave F, Wallen K, Wilson M E, Tamoxifen fails to affect central serotonergic tone but increases indices of anxiety in female rhesus macaques. *Psychoneuroendocrinol* 30 (2000) 273-283.
- [22] Namavar Jahromi B, Tartifzadeh A, Khahnadideh S, Comparison of fennel and mefenamic acid for the treatment of primary dysmenorrheal. *Int J Gynecol Obstet* 80 (2003) 153-7.
- [23] Olsen R W, Picrotoxin –like channel blockers of GABA_A receptor. *Proc Natl Acad Sci* 103 (2006) 6081-6082.
- [24] Ostad S N, Soodi M, Shariffzadeh M, Khorshidi N, Marzban H, The effect of Fennel essential oil on urine contraction as a model for dysmenorrhea, pharmacology and toxicology study. *J Ethnopharmacol* 76 (2001) 299-304.
- [25] Patisaul H B, Luskin J R, Wilson M E, Tamoxifen inhibit sexual behavior in female rats. *Horm Behav* 45 (2004) 270-277.
- [26] Pellow S, Chopin P, File S E, Briley M, Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Meth* 14 (1985) 149-167.
- [27] Stankevicius D, Rodrigues –Costa E C T, Camilo Florio J, Palermo–Neto J, Neuroendocrine, behavioral and Macrophage activity changes induced by picrotoxin effects in mice. *Neuropharmacol* 54 (2008) 300-8.
- [28] Thompson L U, Robb P, Serraino M, Mammalian lignan production from various foods. *Nutr Cancer* 16 (1991) 43-52.
- [29] Vogt M A, Chourbaji S, Brandwein C, Dormann C, Suitability of tamoxifen- induced mutagenesis for behavioral phenotyping. *Exp Neurol* 211 (2008) 25-33
- [30] Weiser M J, Foradori C D, Handa R J, Estrogen receptor beta in the brain: From form to function. *Brain Res* 57 (2008) 309-320.