

## تأثیر عصاره هیدروالکی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر اسپرمتوزن در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

مهرداد مدرسی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، دانشکده کشاورزی، دانشیار علوم جانوری، اصفهان، ایران. Mehrdad\_modaresi@hotmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۲۶

### چکیده

زمینه وهدف: رازیانه گیاهی با نام علمی *Foeniculum vulgare* و متعلق به خانواده Apiaceae یا چتریان است که استفاده از آن در طب سنتی کاربرد فراوانی دارد. ترکیبات اصلی رازیانه شامل ترانس آنثول (*trans-anethole*)، استراگول (*estragole*)، فنکون (*Fenchone*)، لیمونن (*Limonen*)، موجب بروز تغییرات فیزیولوژیک در بخش‌های مختلف بدن می‌گردد. هدف از این تحقیق، تعیین اثرات احتمالی عصاره رازیانه بر بافت بیضه در موش کوچک آزمایشگاهی است.

روش کار: ۴۰ سر موش به صورت تصادفی در ۵ گروه هشت تایی (۳ گروه تیمار و ۲ گروه کنترل و دارونما) تقسیم گردیدند. عصاره هیدروالکی رازیانه در دوزهای مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg تهیه و به روش درون صفاقی به مدت ۲۰ روز به گروه‌های تیماری تزریق شد. از نرمال سالین جهت تزریق به گروه دارونما استفاده گردید. شمارش سلولی اسپرمتوسیت‌های اولیه در مقاطع لوله‌های سمینفروس بیضه و تراکم اسپرمتوزوئید در اپیدیدیم به وسیله میکروسکوپ نوری انجام گرفت.

یافته‌ها: مطالعات بافت شناسی هیچ‌گونه تخریب بافتی را نشان نداده ولی در عین حال میانگین تعداد اسپرمتوسیت‌های اولیه در دوز ۵۰ و ۱۰۰ با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد و مشاهدات میکروسکوپی در مقاطع مجاری اپیدیدیم نیز این نتایج را تأیید می‌نماید.

نتیجه گیری: بررسی نتایج حاصل از شمارش میکروسکوپی سلول‌های اسپرمتوزوئیک در دوز ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg حاکی از اثرات منفی این عصاره بوده و حاکی از آن است که می‌تواند اثرات منفی در قوای تولید مثلی جنس نر را به همراه داشته باشد.

واژه های کلیدی: عصاره رازیانه، اسپرمتوسیت، موش کوچک آزمایشگاهی.

### مقدمه

است که تقریباً همیشه ۲ شاخه می‌باشد. گل‌ها درون گل آذین چتر مرکب قرار دارند و جام گل دارای ۵ گلبرگ زرد رنگ است (۸، ۴). میوه (دانه) معطر از نوع شیزوکارپ تخم مرغی و دارای طول ۱۲-۶ میلی متر و عرض ۳-۲ میلی متر است. سطح آن بی کرک، شیار دار، به رنگ سبز مایل به قهوه‌ای و یا قهوه‌ای مایل به زرد می‌باشد. بوته رازیانه ظاهراً از دور شبیه بوته شوید است ولی عطر گیاه و ارتفاع بیشتر و ریشه ضخیم تر آن را از شوید کاملاً متمایز می‌سازد (۶).

رازیانه یک گیاه یا سبزی کاملاً شناخته شده برای مصرف در آشپزخانه است. از گذشته‌های خیلی دور به

رازیانه با نام عمومی Fennel و نام علمی *Foeniculum vulgare* شناخته می‌شود. رازیانه گیاهی علفی، معطر و به ارتفاع ۱ تا ۲ متر است. این گیاه به خانواده چتریان تعلق دارد و بومی نواحی مدیترانه و مناطق گرمسیر اروپایی است. رازیانه گیاهی پایا و با دوام است که می‌توان از آن چند سال متوالی محصول برداری کرد. برگ‌های سبز تیره با پهنک منقسم به قطعات نازک و نخ‌شکل به صورت ۳-۴ تایی در دو طرف دم‌برگ، روبروی هم قرار دارند و دارای غلاف گوشتی ضخیم خوراکی هستند (۷). ساقه، دارای شیارهای طولی موازی است. ریشه این گیاه، ضخیم، دوکی شکل، به رنگ مایل به سفید و دارای بوی معطر و مطبوع

از دلایل استفاده این گیاه در طب گیاهی بوده است (۱۵). به عنوان یک داروی گیاهی به طور وسیع برای افزایش ترشح شیر، پیشرفت قاعدگی، تسهیل زایمان کاهش دهنده دردهای قاعدگی و افزایش میل جنسی کاربرد دارد (۱۴، ۳). با افزایش آنزیم‌های گوارشی، به عمل هضم کمک می‌کند و از این رو داروی مقوی معده می‌باشد (۱۴). در طب سنتی چین رازیانه برای درمان اختلالات شبیه فتق و هر نوع درد قسمت تحتانی شکم ناشی از سرماخوردگی با علائمی مثل درد شکم، سوء-هاضمه کاهش اشتها و استفراغ به کار رفته است (۱). ریشه رازیانه، اثر مدر قوی دارد و دفع کننده اوره و اسید اوریک است و در موارد کمی دفع ادرار، سنگ کلیه، نفريت و بیماری‌های نظیر آن مصرف می‌شود، به علاوه اشتها آور و قاعده آور است (۱۶).

### مواد و روش‌ها

#### شرایط نگهداری نمونه‌ها

در این مطالعه ۴۰ سر موش‌های نر نابالغ از بقیه موش‌های آزمایشگاهی پرورش داده شده در لانه حیوانات جدا شده و در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. نمونه‌های مورد نظر به مدت ۲ ماه تحت مراقبت در شرایط آزمایشگاهی و رسیدن به مرحله بلوغ قرار گرفتند. در طی این مدت و هم چنین در طول دوره تزریق، نمونه‌ها از غذا و آب یکسان، دمای ثابت ۲۸-۳۲ درجه سانتی‌گراد و پریرود نور طبیعی بهره گرفتند.

#### تقسیم بندی نمونه‌های تجربی

یک هفته قبل از شروع تزریقات نمونه‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم‌بندی شدند. هر یک از گروه‌ها در قفس‌های جداگانه قرار گرفتند. در هر قفس نیز تعداد هشت موش کوچک آزمایشگاهی (مجموعاً ۴۰ سر) از نژاد Balb/C قرار داده شدند به طوری که متوسط وزن هر گروه  $30 \pm 5$  گرم بود.

دلیل معطر و خوشبو بودن، برای مزه دار کردن شیرینی‌ها، داروها و غذاها کاربرد داشته است. امروزه از دانه این گیاه به عنوان ماده‌ای معطر در خوشبو کردن نان‌های روغنی و شیرینی‌آردی ترشی‌ها و خوراک ماهی استفاده می‌شود. رازیانه به عنوان یک عامل طعم دهنده در مخلوط‌های چای و نوشیدنی‌های الکلی به کار رفته است. روغن رازیانه را می‌توان به عنوان یک جزء آنتی‌سپتیک در خمیر دندان‌ها و دهان شویه‌ها، به عنوان یک ترکیب در فرآورده‌های پوستی ضد پیری و ضد چین و چروک، صابون‌ها، پاک کننده‌ها، کرم‌ها، لوسیون‌ها و مواد خوشبو کننده به کار برد. از روغن رازیانه برای محافظت میوه‌ها و سبزیجات انبار شده در برابر رشد قارچ‌های سمی می‌توان استفاده کرد (۱۲). دانه سائیده شده رازیانه برای دور کردن و دفع کک‌ها از لانه سگ‌ها و اصطبل‌ها کاربرد دارد.

رازیانه یکی از قدیمی‌ترین و مهم‌ترین گیاهان داروئی شناخته شده است که به طور شایع در مقاصد طبی کار برد دارد (۵). ارزش داروئی این گیاه بیشتر به دلیل روغن فرار موجود در دانه آن است ولی از ریشه و برگ‌ها نیز برای مصارف داروئی می‌توان استفاده کرد. رازیانه از نظر طبیعت طبق نظر حکمای طب سنتی نسبتاً گرم و خشک است. دانه آن گرم‌تر از برگ آن و ریشه آن گرم‌تر از سایر اعضای گیاه است. از این رو مصرف آن برای گرم مزاجان همراه با سکنجین توصیه شده است (۱۱). این گیاه دارای کاربرد سنتی و درمانی وسیعی است که در کتب طب به آن اشاره شده است. رازیانه اسفنکترها را شل و اسپاسم دستگاه گوارش را کاهش می‌دهد، در دستگاه تنفسی به عنوان خلط‌آور عمل می‌کند و فعالیت موکوسیلیاری اپی‌تلیوم مژک‌های تنفسی را افزایش می‌دهد، به عنوان یک ضد نفخ برای درمان کولیک همراه با نفخ در شیرخواران و درمان سندرم روده تحریک پذیر به کار رفته و عملکرد ضد نفخی رازیانه

### گروه‌های مورد آزمایش

گروه کنترل: به منظور دستیابی به بررسی مقاطع بافت طبیعی بیضه این گروه در شرایط مشابه با گروه‌های تیمار ولی بدون انجام تزریق در مدت زمان آزمایش نگهداری شد.

گروه دارونما (Placebo): به منظور حصول اطمینان از عدم تاثیر تزریقات در نتیجه آزمایش و هم چنین عدم تاثیر اتانول مورد استفاده در تهیه عصاره رازیانه و مقایسه آن با گروه کنترل، روزانه به این گروه به میزان ۰/۵ سی-سی نرمال سالین تزریقی تزریق شد.

گروه تیمار ۱: شامل هشت موش نر بالغ که روزانه به میزان ۰/۵ سی سی از عصاره رازیانه با دوز ۲۵ mg/kg هر ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان به آن‌ها تزریق شد (۱۰ تزریق).

گروه تیمار ۲: شامل هشت موش نر بالغ که روزانه به میزان ۰/۵ سی سی از عصاره رازیانه با دوز ۵۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان به آن‌ها تزریق شد (۱۰ تزریق).

گروه تیمار ۳: شامل هشت موش نر بالغ که روزانه به میزان ۰/۵ سی سی از عصاره رازیانه با دوز ۱۰۰ mg/kg به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان به آن‌ها تزریق شد (۱۰ تزریق).

### تهیه نمونه های بافت شناسی

پس از جدا کردن بیضه ها، آن‌ها در فرمالین فیکس و پس از عبور از مراحل آب گیری و پاساژ بافتی در پارافین قالب گیری شدند. پس از برش گیری و رنگ آمیزی هیستوشیمیایی بررسی های بافت شناسی صورت گرفت.

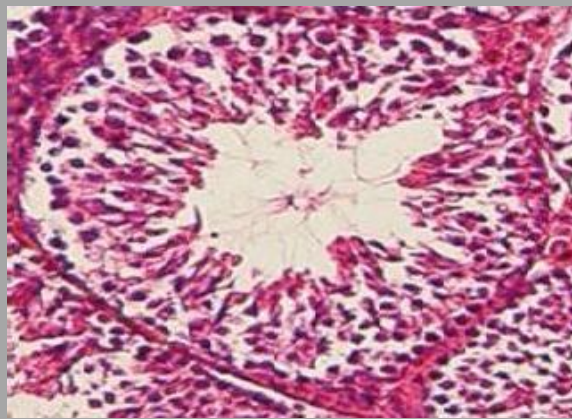
### تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق مقایسه میانگین داده‌های حاصل از نتیجه آزمایش با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان بیش از ۹۵٪ ( $p < ۰/۰۵$ ) و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد.

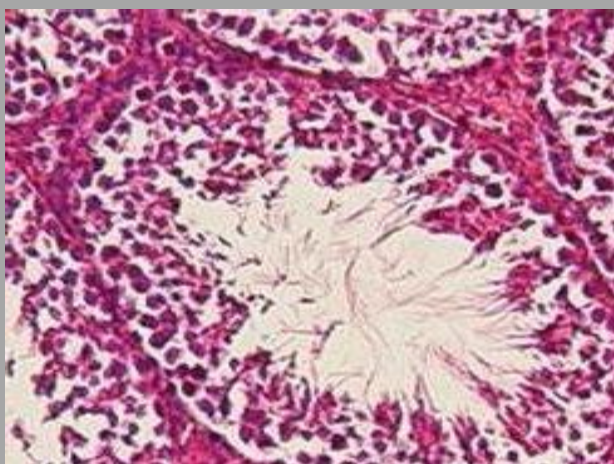
### نتایج

#### ویژگی های بافت شناسی

پس از تهیه برش های بافتی و رنگ آمیزی آن‌ها با هماتوکسیلین - ائوزین، بررسی های بافت شناسی نشان داد که در ساختار سلولی بین گروه کنترل، دارونما و سه گروه تیمار تفاوتی وجود ندارد به طوری که در کلیه مقاطع تهیه شده شکل و پراکندگی لوله های اسپرم ساز طبیعی است و هیچ گونه تخریب بافتی ناشی از تزریق مشاهده نمی شود. سلول های اسپرم ساز تمایز نیافته به سمت دیوارهای لوله های اسپرم ساز و سلول های تمایز یافته تر نظیر اسپرماتوسیت های ثانویه و اسپرماتوزوئیدها به سمت داخلی حفره لوله ها قرار دارند.



شکل ۱- مقطع مجاری سمینفروس در گروه کنترل (درشتنمایی  $\times 400$ )

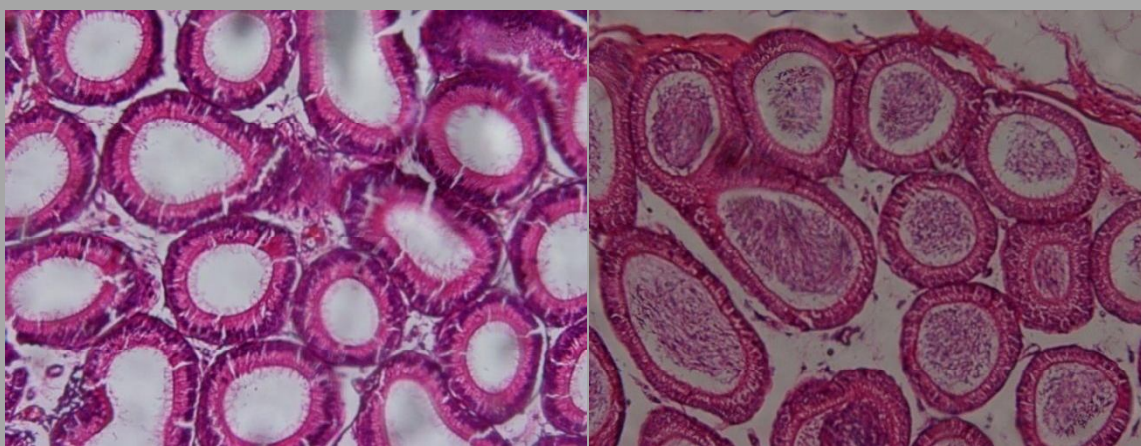


شکل ۲- مقطع مجاری سمینفروس در گروه تیماری ۵۰ mg/kg (درشتنمایی ۴۰۰×)

#### بررسی مقاطع اپیدیدیم

بررسی‌های بافت‌شناسی نشان می‌دهند که بین گروه‌های تجربی ۲ (تیمار با دوز تجربی ۵۰ mg/kg) و ۳ (تیمار با دوز تجربی ۱۰۰ mg/kg) با گروه کنترل از نظر تعداد سلول‌ها

تفاوت بافتی مشاهده می‌شود به این صورت که میزان اسپرمانوزوئیدها در این مقاطع نسبت به گروه کنترل کاهش نشان می‌دهد.

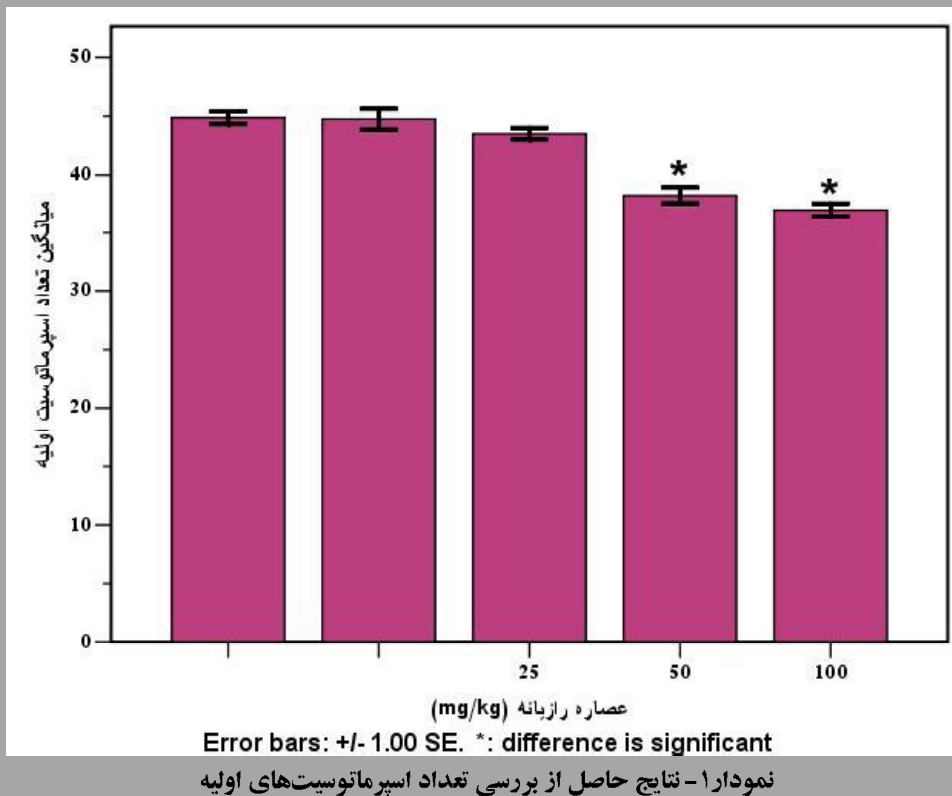


شکل ۳- مقطع عرضی اپیدیدیم سمت راست گروه کنترل و سمت چپ گروه تجربی ۳

#### بررسی تعداد اسپرمانوسیت‌های اولیه

پس از بررسی و شمارش تعداد اسپرمانوسیت‌های اولیه با استفاده از مقاطع بافتی تهیه شده و مقایسه بین میانگین تعداد اسپرمانوسیت‌های اولیه در گروه‌های تجربی و گروه کنترل با استفاده از آزمون دانکن و در سطح اطمینان بالاتر از ۹۵٪ نتایج نشان داد که میانگین

تعداد اسپرمانوسیت‌ها در گروه‌های تجربی ۲ (تیمار با دوز تجربی ۵۰ mg/kg)، ۳ (تیمار با دوز تجربی ۱۰۰ mg/kg) با گروه کنترل دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشد. سایر گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نمی‌دهند (نمودار ۱).



### بحث و نتیجه‌گیری

درون لوله‌های اسپرم ساز هدایت می‌کند (۹). با کاهش غلظت FSH این عمل کاهش یافته و در نتیجه میزان اسپرم‌های موجود در مقاطع اپیدیدیم با کاهش محسوسی همراه خواهد بود. عامل دیگری که می‌توان در فرآیند تولید اسپرم مؤثر باشد هورمون تستوسترون می‌باشد، این هورمون از تحریک هورمون LH و توسط سلول‌های لیدینگ موجود در بیضه ترشح می‌شود و احتمالاً انجام مراحل انتهایی اسپرماتوزن (اسپرمیوزن) را برعهده دارد (۱۰). بنابراین هورمون اصلی در پدیده‌ی اسپرماتوزن، هورمون FSH می‌باشد و هورمون تستوسترون نقش فرعی در این پدیده دارد. نتایج این تحقیق کاهش تعداد اسپرماتوسیت‌های اولیه در دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg را نشان می‌دهد. بنابراین می‌توان عصاره رازیانه را عامل کاهش در میزان اسپرم‌ها دانست که بیشتر در زمینه

مقایسه‌ی مقاطع بافتی تهیه شده از اپیدیدیم موش‌های سوری بیان‌گر این مطلب است که در گروه‌های تجربی ۲ و ۳، نسبت به گروه کنترل، کاهش محسوسی در میزان اسپرم‌های موجود، مشاهده می‌شود. کاهش میزان اسپرماتوزن و نهایتاً کاهش در میزان اسپرم‌های حاصل در مقاطع اپیدیدیم می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلف باشد. یکی از این عوامل اصلی، کاهش در میزان هورمون FSH می‌باشد. این هورمون باعث تسریع در تقسیم سلول، تحریک و تبدیل سلول‌های اسپرماتوگونی به سلول‌های اسپرماتوزوئید می‌شود (۲). FSH با اتصال به سلول‌های سرتولی سبب تحریک آدنیلات سیکلاز و افزایش cAMP و باعث ساخت و ترشح ABP (پروتئین متصل شونده به آندروژن) می‌شود. این پروتئین با اتصال به تستوسترون، این آندروژن را جهت فرآیند اسپرم زایی به

گیرنده‌ی (ER-B) در مقایسه با (ER-a) بیشتر است (۱۷). یکی از عوامل ساختاری که فیتواستروژن‌ها را قادر به باند شدن به رسپتورهای استروژن و ایفای اثرات شبیه استرادیول می‌کنند عبارتست از وجود یک حلقه فنولیک که برای باند شدن به رسپتورهای استروژن، ضروری است. ترانس آنتول نیز به دلیل دارا بودن حلقه‌ی فنلی، به رسپتورهای استروژن باند شده و در نتیجه اثرات استروژنیک خود را بر جای می‌گذارد (۱۹). فیتواستروژن‌ها باعث مهار ۱۷-بتا هیدروکسی استروئید ردوکتاز و مهار رسپتورهای استروژن‌ها شده و سبب کاهش سطح FSH و LH می‌شود (۱۳).

بنابر نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که عصاره رازیانه قادر است با تأثیر بر محور هورمونی هیپوفیز بیضه بر پدیده اسپرماتوژنز و اسپرمیوژنز موثر بوده و عامل کاهش تعداد اسپرم‌ها گردد.

اسپرمیوژنز موثر بوده است. ترانس آنتول موجود در دانه‌ی رازیانه، به دلیل شباهت ساختمانی به کاتکولامین‌ها مثل دوپامین، اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین، و با قرار گرفتن بر روی گیرنده‌های دوپامین، سبب کاهش اثر مهاری دوپامین بر روی پرولاکتین و در نتیجه افزایش ترشح شیر می‌شود. شباهت شیمیایی ترانس آنتول به نوراپی‌نفرین، سبب قرار گرفتن آنتول بر روی گیرنده‌های نوراپی‌نفرین در هیپوتالاموس شده و با اثر آنتاگونیستی که از خود نشان می‌دهد، سبب کاهش تأثیر نوراپی‌نفرین بر گیرنده‌های خود می‌شود (۱۳). در نتیجه‌ی کاهش میزان تأثیر نوراپی‌نفرین بر گیرنده‌ها، تأثیر آن بر هیپوتالاموس نیز کاهش یافته و GnRH کمتری از هیپوتالاموس ترشح می‌شود. به دنبال آن میزان هورمون‌های FSH و LH نیز کاهش نشان می‌دهد (۱). شباهت شیمیایی ترانس آنتول به بتا استرادیول مسئول بروز این اثرات استروژنیک است. فیتواستروژن‌ها، اثرات خود را به واسطه‌ی باند شدن به رسپتورهای استروژن (ER) اعمال می‌کنند (۱۸). دو نوع گیرنده‌ی استروژن وجود دارد، آلفا (ER-a) و بتا (ER-B) و میل ترکیبی بسیاری از فیتواستروژن‌ها به

## منابع

- ۱- مصمصام شریعت، هادی. ۱۳۸۵. گیاهان دارویی (طبقه بندی شده بر حسب موارد استفاده آن‌ها در طب سنتی و پزشکی امروز)، چاپ اول، اصفهان، انتشارات چهار باغ. ص ۲۶.
- ۲- مصمصام شریعت، هادی، معطر، فریبرز. ۱۳۶۵. گیاهان و داروهای طبیعی (مفردات پزشکی)، جلد سوم، چاپ اول، اصفهان، انتشارات مشعل. ص ۴۲۴-۴۲۲.
- ۳- فلوک، هانس. ۱۳۶۴. گیاهان دارویی (ترجمه دکتر محمدرضا توکلی صابری، دکتر محمدرضا صداقت). ص ۱۰۸.
- ۴- کارلوس، لوئیز، کوئیرا، جان. ۱۳۸۳. بافت شناسی پایه (ترجمه دکتر مهدی منتظری، دکتر مسلم بهادری)، چاپ

- ۱- بخردی، رضا. ۱۳۸۴. گیاه درمانی نوین، انتشارات کاشان. ۶۱-۷۶.
- ۲- پریور، کاظم. ۱۳۸۱. جنین شناسی، چاپ چهارم، تهران، انتشارات مبتکران، ص ۱۵۳-۱۵۳.
- ۳- حیدری، مهناز. ۱۳۷۹. اثر توکسین‌های محیطی در ایجاد ناباروری، بولتن تولید مثل و نازائی، سال سوم، شماره ۳۰، تهران، پژوهشکده ابن سینا (مرکز پژوهشی بیولوژی و بیوتکنولوژی تولید مثل و نازائی جهاددانشگاهی). ص ۴-۵.
- ۴- زرگری، علی. ۱۳۶۵. گیاهان دارویی، جلد دوم، تهران، انتشارات دانشگاه تهران. ص ۵۶۳-۵۵۳.
- ۵- مصمصام شریعت، هادی. ۱۳۸۲. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی، چاپ دوم، انتشارات مانی. ص ۲۵۵-۵۲۶.

15. Ernst, E. (2002). Herbal medicinal products during pregnancy. *J Safa BJOG*, 109(3): 227-235.
16. Fritz Weiss, R., Fintelman, V. (2000). *Herbal Medicine*, Second Edition, New York, p 187.
17. Miyake, A., Tsaka, K., Sakumoto, T., Kavamura, Y., Aono, T., Kurachi, K. (1983). Norepinephrine induces releases of bith LH-RH from the hypothalamus and LH from the rat pituitary in vitro. *Endocrinol Jpn*, 30(4); 509-512.
18. Ostad, S. N., Soodi, M., Sharifzadeh, M., Marzban, H. (2001). The effect of fennel essential oil on uterine interaction as amodel for dysmenorhea pharmacology and toxicology study. *J. Ethnopharmacol*, 76; 299-304.
19. Turner, J., Kustrin, S. (2007). Molecular aspects of phytoestrogen selective binding at estrogen receptors, *J pharm sci*, 96(8); 1875-1879.
- سوم، ویرایش دهم، تهران، انتشارات ارجمند، ص ۱۲۴-۱۳۵.
- ۱۰- گایتون، آرتور. ۱۳۸۳. فیزیولوژی پزشکی، (ترجمه دکتر احمد رضا نیاورانی)، جلد دوم، چاپ سوم، تهران، انتشارات سماط. ص ۱۱۴۹-۱۱۴۳.
- ۱۱- میرحیدر، حسین، ۱۳۶۶، *دائرة المعارف گیاهی: گنجینه اسرار گیاهان*، (رهنمودی برای معالجه بیماران و تامین کننده سلامت و نشاط انسان)، تهران، انتشارات وحید، ص ۳۶۲-۳۵۷.
- ۱۲- میرحیدر، حسین. ۱۳۷۲. *معارف گیاهی (کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها)* جلد دوم، تهران، نشر فرهنگ اسلامی. ص ۳۳۴-۳۳۰.
13. Albert- puleo, M. (1995). Fennel and anise as estrogenic agents. *J. Ethnopharmacol*, 2(4); 337-344.
14. Bartram, T. (1995). *Encyclopedia of Herbal Medicine*, P.181.

