مقاله پژوهشی

تأثیر عصاره آبی رازیانه بر هورمون‌های تیروئید و بیان گیرنده‌های آن در تخمدان موش BALB/C

فاطمه جوادی[۱]، منیره موحدی[۱*]، محمود براتی[۲]، سیده معصومه امیری[۱]، لیدا کوشش[۱]، فرشته گلاب[۳*]

۱- گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
۲- گروه بیوتکنولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۳/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۵/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: رازیانه (*Foeniculum vulgare*) یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های گیاهی بوده که دارای فعالیت‌های دارویی مختلف است. هورمون‌های اصلی تولیدشده از طریق غده تیروئید عبارت‌اند از تیروکسین (T4) و تری‌یدوتیرونین (T3) که باعث تنظیم رشد و نمو بدن می‌شوند. هورمون‌های تیروئیدی دو گیرنده بانام‌های TRα و TRβ در بافت‌های مختلف دارند. مطالعه حاضر به بررسی اثر عصاره آبی رازیانه بر سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی و میزان بیان گیرنده‌های تیروئیدی در بافت تخمدان پرداخته است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از ۴۰ موش ماده سوری نژاد Balb/C با وزن ۲۰-۱۸ گرم استفاده شد. موش‌ها به ۵ گروه ۸ تایی شامل کنترل، شم، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره تقسیم شدند و ۱۴ روز تزریق عصاره آبی رازیانه به‌صورت درون صفاقی (IP) دریافت کردند. پس‌ازآن از موش‌ها به‌منظور سنجش هورمون تیروئید از ناحیه قلب خون‌گیری انجام شد. از بافت تخمدان نیز به‌منظور بررسی بیان گیرنده‌های تیروئیدی به روش Real time-PCR نمونه‌برداری انجام شد.

نتایج: عصاره آبی رازیانه بر سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی تغییر معناداری ایجاد نکرد. در مورد میزان بیان گیرنده‌های هورمون تیروئیدی در بافت تخمدان، گیرنده تیروئیدی β در هیچ‌یک از دوزهای تزریقی تفاوت معناداری با گروه کنترل نداشت، ولی میزان بیان گیرنده تیروئیدی α در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنادار نسبت به گروه کنترل داشت. وزن موش‌ها نیز در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل داشت.

نتیجه‌گیری: احتمالاً رازیانه در دوز بالا می‌تواند پاسخ تخمدان به هورمون‌های تیروئیدی را افزایش دهد.

کلمات کلیدی: رازیانه، هورمون‌ها، تیروئید

مقدمه

تیروکسین اصلی‌ترین هورمون و شکل غالبی است که از غده تیروئید آزاد می‌شود و از طریق ۵- دیدیناز سلول‌های هدف هورمون تیروئیدی به فرم فعال یعنی تری‌یدوتیرونین (T_3) تبدیل می‌شود (۱). اعمال فیزیولوژیکی مهم هورمون‌های تیروئیدی از طریق اتصال به گیرنده‌های هسته‌ای هورمون تیروئیدی (TRs) میانجی‌گری شده است (۱، ۲). در انسان‌ها، دو گیرنده هورمون تیروئیدی هومولوگ (TRα، TRβ) از طریق ژن‌های THRA و THRB رمزگذاری می‌شود. این ژن‌ها به ترتیب روی کروموزوم ۱۷ و ۳ قرارگرفته‌اند (۳). هورمون‌های تیروئیدی (T_3 و T_4) به گیرنده‌های خود به متصل می‌شوند و بیان ژن‌های هدف را با شناسایی توالی‌های DNA ژن‌های هدف در مناطق تنظیمی ژن-های هدف تنظیم می‌کنند (۴).

هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در رشد فولیکول‌های تخمدانی، بلوغ و حفظ عملکرد غدد درون‌ریز بازی می‌کنند. گیرنده‌های این هورمون در کنترل تولیدمثل دخیل بوده و در

*نویسندگان مسئول: ۱- **فرشته گلاب**، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
Email: Fgolab520@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2829-7881
۲- **منیره موحدی**، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران
Email: mon_movahedi@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0003-2868-2608

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

اپیتلیوم سطح تخمدان حضور دارند و باعث تنظیم هورمونی آن می‌شوند. گیرنده‌های هورمون تیروئیدی بر روی فولیکول تخمدانی اثرات متنوعی دارند. در پستانداران عدم تعادل در هورمون‌های تیروئیدی باعث کاهش رشد فولیکول‌ها می‌شود (۱). همچنین اختلال در تنظیم این هورمون باعث اختلالات قاعدگی و تخمک‌گذاری می‌شود (۵).

یکی از مشکلات تیروئید، گرگرفتگی ناشی از یائسگی است. هایپرتیروئیدیسم باعث عدم تحمل به گرما و تعریق می‌شود (۶). علت اصلی گرگرفتگی به‌صورت دقیق مشخص نیست، اما ریسک فاکتورهایی مانند قاعدگی قبل از ۱۲ سال، داشتن سابقه قاعدگی نامنظم و سطوح استروژن پایین در گرگرفتگی نقش دارند (۷). شیوه‌های درمانی مختلفی ازجمله هورمون درمانی و درمان‌های مبتنی بر استروژن برای کاهش گرگرفتگی پیشنهادشده است. استروژن با بالا بردن آستانه تعریق دمای بدن باعث بهبود گرگرفتگی می‌شود (۸)؛ اما ازآنجایی‌که هورمون درمانی با افزایش خطر بیماری‌های مزمن مانند بیماری قلبی، ترومبوآمبولی، سکته و سرطان سینه همراه بوده است، رویکرد جدید به سمت طب گیاهی و استفاده از فیتواستروژن‌ها است (۷). فیتواستروژن‌ها ترکیبات گیاهی با ویژگی‌های زیستی مشابه با استروژن هستند و به علت شباهت ساختاری با استرادیول دارای اثرات مشابه هستند (۲). تحقیقات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد زنانی که دارای رژیم غذایی سرشار از فیتواستروژن هستند، در معرض عوارض کمتری از یائسگی می‌باشند (۹).

Foeniculum vulgare(fennel) یا رازیانه یک گیاه طبی رایج از خانواده چتریان است. تاکنون در ارتباط با گیاه رازیانه و تأثیرات درمانی آن تحقیقات زیادی انجام‌شده است. در کتب سنتی به این موضوع اشاره‌شده که تخم رازیانه محرک و مقوی معده و قاعده آور است. این گیاه دارای خاصیت ضدالتهابی و آنتی-اکسیدانی است. گیاه رازیانه باعث افزایش غدد پستانی، ترشح شیر، افزایش قدرت باروری در جنس ماده و بلوغ زودرس در دختران می‌شود (۱۰، ۱۱). اهمیت استفاده از گیاه رازیانه در تحقیقات متعدد، به علت وجود ماده آنتول است که یک فیتواستروژن است و دارای اثرات و خواص متعدد است. اکثر فیتواستروژن‌ها به گروه بزرگی از ترکیبات فنولی بانام فلاوونوئیدها تعلق دارند. به علت شباهت ساختاری فیتواستروژن-ها با هورمون زنانه استرادیول (β-17 استرادیول)، دارای اثرات مشابه با استروژن می‌باشند. بعضی از این اثرات شامل تأثیر بر روی سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی و علائم یائسگی است (۵). از دیگر خواص رازیانه درمان دیسمنوره اولیه، اثر بر رشد لوله‌های رحمی، تخمدان‌ها، آندومتر، میومتر، پریودهای زودرس و افزایش میل جنسی است (۱۱، ۱۲).

با توجه به اینکه رازیانه یک گیاه فیتواستروژنی است و بر سیستم تولیدمثلی اثر دارد و با توجه به اینکه هورمون‌های تیروئیدی نیز نقش مهمی در عملکرد تخمدان دارند و چون تاکنون هیچ تحقیقی براثر رازیانه بر تخمدان باواسطه هورمون‌های تیروئیدی صورت نگرفته است، بر آن شدیم تا اثر عصاره آبی رازیانه را بر هورمون‌های تیروئیدی و گیرنده این هورمون در تخمدان موردبررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش دانه رازیانه تازه ضدعفونی شده از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری‌شده و عصاره آبی آن تهیه گردید. به این صورت که ۲ گرم از بذر پودر شده‌ی رازیانه به µl ۹۰ آب مقطر گرم شده روی هات‌پلیت اضافه گردید. پودر رازیانه درون آب مقطر حل شد. بعد از خنک شدن، محلول عصاره حاصل با کمک قیف از تنظیف عبور داده شد. سپس به‌منظور رسوب کردن مواد ناخالص، محلول عصاره در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۵۰۰ قرار داده شد.

۴۰ عدد موش سوری ماده نژاد Balb/C با وزن ۲۰-۱۸ گرم از موسسه سرم‌سازی رازی کرج خریداری شدند و در اتاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی ایران با رعایت شرایط حرارتی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. بعد از یک هفته قرنطینه بودن موش‌ها، کار تزریق عصاره شروع شد. تزریقات در دوره زمانی ۱۵ روزه انجام شد. وزن موش‌ها در ابتدا و انتهای این دوره اندازه‌گیری شد. موش‌های ماده BALB/C در ۵ گروه تقسیم‌بندی شدند. در هر گروه حدود ۸ موش انتخاب شد. موش‌ها وزن شدند و دوز تزریقی بر اساس آن محاسبه گردید.

گروه‌بندی شامل موارد زیر است:

گروه ۱ (کنترل): در طی آزمایش هیچ‌گونه حلال یا عصاره‌ای دریافت نکردند.

گروه ۲ (شاهد): در طی ۱۴ روز تزریق، آب مقطر دریافت کردند.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

گروه ۳ (تجربی ۱): مدت ۱۴ روز، ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه دریافت کردند.

گروه ۴ (تجربی ۲): مدت ۱۴ روز، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه دریافت کردند.

گروه ۵ (تجربی ۳): مدت ۱۴ روز، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره رازیانه دریافت کردند.

تزریق رازیانه به‌صورت درون‌صفاقی (IP) بر روی موش‌ها انجام شد. پس از اتمام آخرین روز تزریق (روز ۱۵) موش‌ها با کلروفرم بی‌هوش شده و سریعاً از ناحیه قلب خون‌گیری به عمل آمد. پس از خون‌گیری موش‌ها تشریح شدند و بافت تخمدان سمت راست موش‌ها خارج شد و توسط نرمال سالین شست‌وشو داده شد و در داخل میکروتیوپ قرار داده شد. میکروتیوپ‌های حاوی بافت تخمدان به‌منظور بیان گیرنده‌های تیروئیدی و انجام مراحل Real time PCR در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. میکروتیوپ‌های حاوی نمونه خونی در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰rpm -۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از پایان سانتریفیوژ سرم از نمونه خون جدا شد و نمونه‌ها به‌منظور سنجش هورمون تیروئید و انجام الایزا در فریزر ۲۰- نگهداری شدند.

الایزا

به‌منظور بررسی اثر عصاره آبی رازیانه بر سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی از کیت تحقیقاتی Mouse Tri-idothyronine (T_3) و Mouse thyroxine (T_4) ساخت کشور آمریکا از کمپانی EASTBIOPHARM و طبق روش کار کیت استفاده شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه ELISA reader قرار داده‌شده و جذب آن‌ها در طول‌موج 450 nm قرائت شد. به‌منظور قرائت میزان جذب نمونه‌ها از برنامه Gen Reader Control استفاده شد.

بررسی بیان ژن

به‌منظور بررسی بیان ژن‌های موردنظر در ابتدا نمونه‌ها وزن شدند به‌منظور استخراج RNA از کیت AccuZolTM ساخت شرکت (BIONEER) استفاده شد. از ۵۰ میلی‌گرم بافت تخمدان بر اساس دستورالعمل RNA جداشده و در ۵۰ میکرولیتر آب بدون RNase حل شد. سپس برای انجام سنتز cDNA از کیت QuantiTect Reverse Transcription از کمپانی QIAGEN استفاده شد. از نمونه‌های RNA به میزان ۲ میکروگرم (برای هر واکنش ۲۰ µl حجم) استفاده شد. از cDNA سنتز شده برای RT-PCR واقعی مبتنی بر SYBR استفاده شد. به‌منظور انجام real-time از کیت QuantiNova SYBER Green PCR از کمپانی QIAGEN استفاده شد.

جفت پرایمر مورداستفاده در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده‌شده است.

جدول ۱- سکانس پرایمرهای استفاده‌شده جهت انجام آزمایش Q-PCR

نام ژن	ترادف پرایمر	تعداد جفت باز	دمای آنیلینگ
bactin	Forward: TGAAGATCAAGATCATTGCTCCTC Reverse: TCAGTAACAGTCCGCCTAGAAG	۲۴ ۲۲	۵۸ ۵۹
Thyroid hormone receptor-alpha	Forward: GAGGAGAACAGTGCCAGGTC Reverse: CGTCTTTGTCCAGGTAACTAGGG	۲۰ ۲۳	۶۰ ۶۰
Thyroid hormone receptor-beta-F	Forward: GTATGTATGCTCTCCGAGTATATGC Reverse: TGCTATCCAGGTTCAGGTTCTAC	۲۵ ۲۳	۵۸ ۵۹

پارامترهای حرارتی عبارت‌اند از: یک چرخه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه و سپس ۴۰ چرخه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه. مقادیر β-actin برای بارگذاری نرمال شدن برای هر نمونه مورداستفاده قرار گرفت. بیان تغییرات نسبی با استفاده از روش ΔΔCt نسبت به مقادیر بیان ژن برای موش‌های کنترل تعیین می‌شود.

آنالیز آماری: نتایج آماری به‌دست‌آمده در این تحقیق به‌صورت

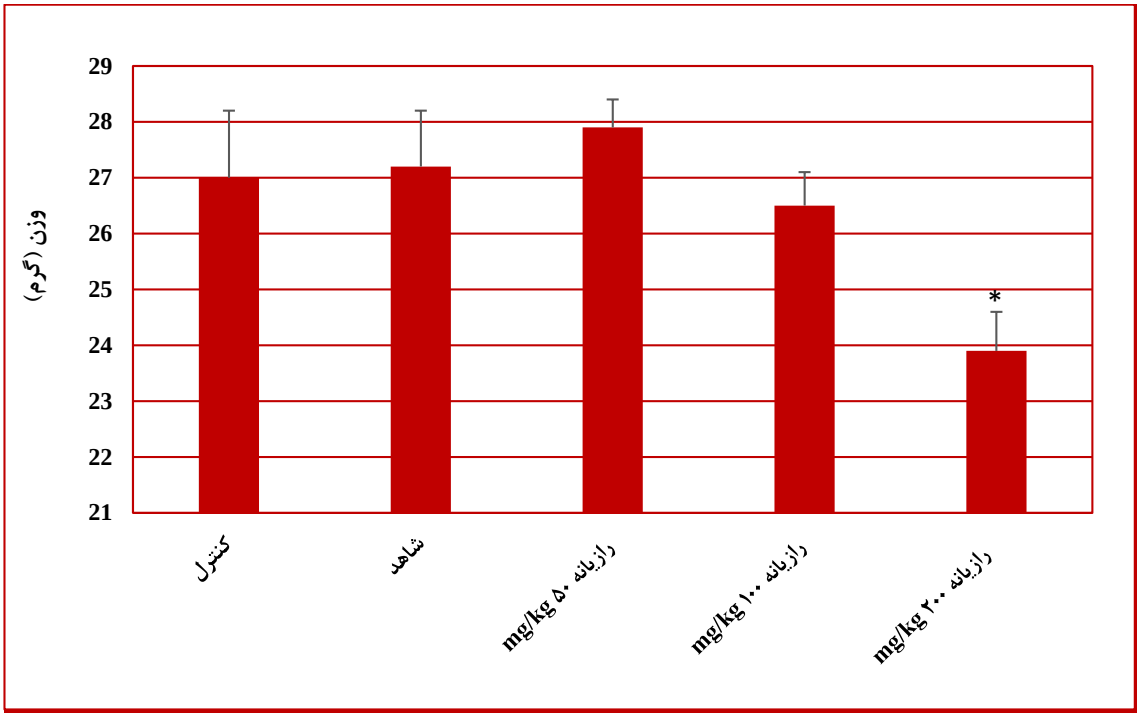
[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

میانگین± خطای استاندارد میانگین ارائه‌شده است. از برنامه SPSS جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. با توجه به این نکته که داده‌های موردنظر آماری در تحقیق حاضر از توزیع نرمال برخوردار بودند، آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA برای مقایسه داده‌ها استفاده گردید و برای مقایسه بین گروه‌ها از پست تست توکی (Tukey's Post Hoc Test) استفاده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تغییرات میانگین وزنی موش‌ها پس از تزریق رازیانه

نتایج مشاهده‌شده از تأثیر عصاره آبی رازیانه در دوزهای تزریقی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نشان داد که میانگین وزنی موش‌ها در دوز ۲۰۰ نسبت به گروه کنترل و *sham* پس از تزریق تفاوت معناداری داشته است و در این دوز کاهش وزن مشاهده‌شده است؛ اما در دوز ۵۰ و ۱۰۰ میانگین وزنی موش‌ها با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشته است ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۱).



نمودار ۱- نمودار ستونی مقایسه میانگین وزنی گروه‌های مختلف: کنترل: هیچ‌گونه ماده‌ای دریافت نکردند، شاهد: در طی ۱۴ روز آب مقطر دریافت کردند، گروه‌های تجربی رازیانه با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ۵ درصد است.

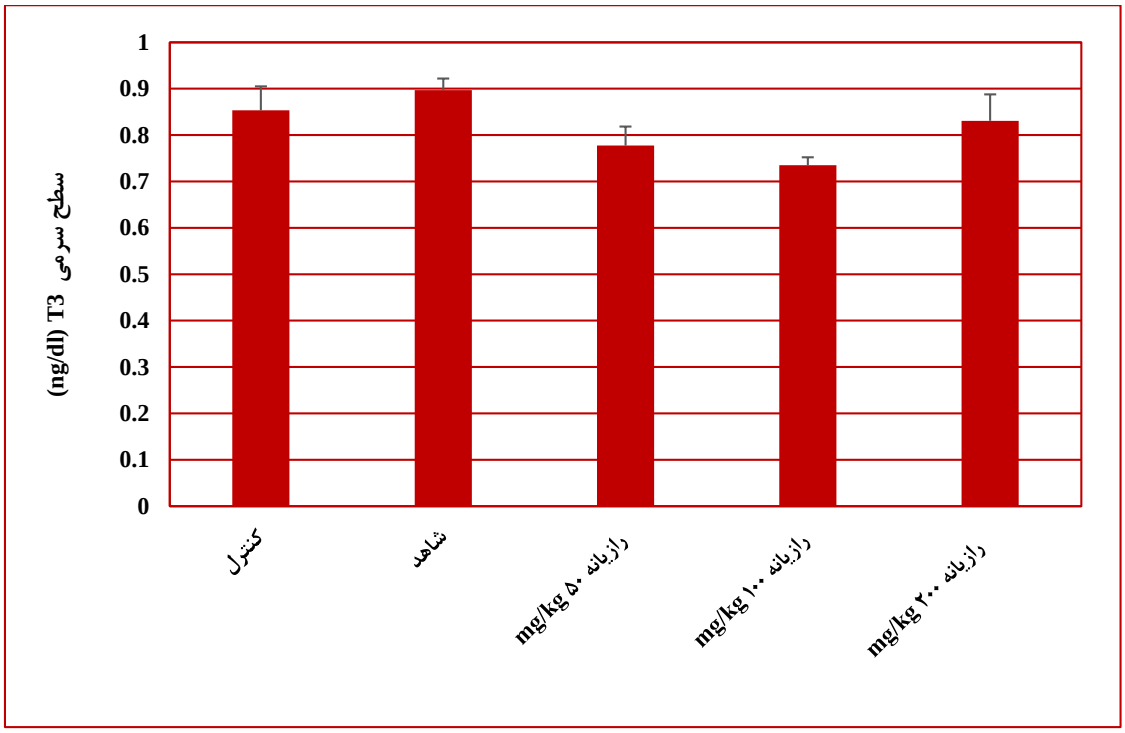
تغییرات مقدار هورمون‌های تیروئیدی (T_4 ،T_3) با استفاده از روش الایزا

در مطالعه انجام‌شده در اثر تزریق عصاره آبی رازیانه بر موش‌ها هیچ تفاوت معناداری مابین گروه‌ها در هورمون‌های تیروئیدی T_3 و T_4 نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۲).

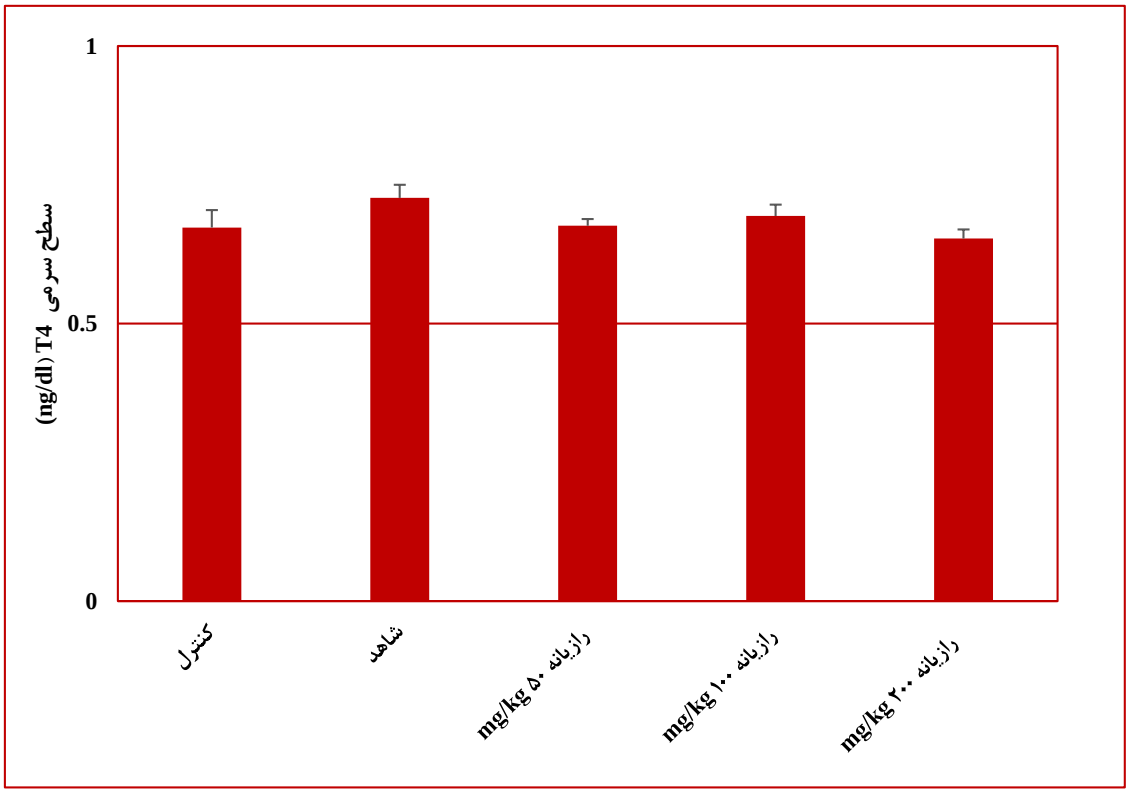
بررسی تغییرات بیان ژن‌های گیرنده هورمون تیروئیدی (α و β) در بافت تخمدان موش‌ها

نتایج حاصل از بیان ژن در بافت تخمدان نشان داد که استفاده از عصاره رازیانه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گیرنده تیروئیدی α تفاوت معنادار با گروه کنترل داشته است، یعنی عصاره رازیانه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش بیان گیرنده تیروئیدی α شده است؛ اما در گروه‌های دیگر تفاوت معناداری در بیان گیرنده تیروئیدی α مشاهده نشد. همچنین با تزریق عصاره رازیانه در دوزهای مختلف، تغییر معناداری در بیان گیرنده تیروئیدی β در گروه‌های مختلف نسبت به کنترل مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$) (نمودار ۳).

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

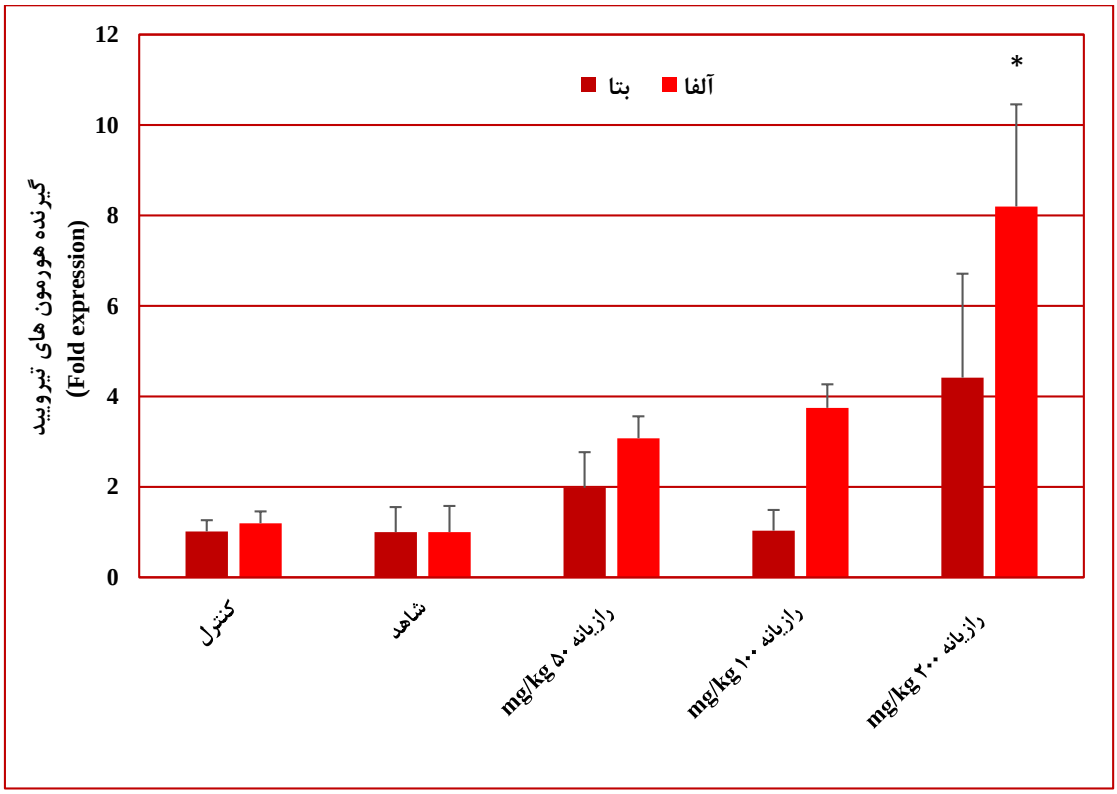


نمودار a ۲- نمودار ستونی مقایسه سطح هورمون T_3 در نمونه سرم خون با استفاده از روش الایزا: کنترل: هیچ‌گونه ماده‌ای دریافت نکردند، شاهد: در طی ۱۴ روز آب مقطر دریافت کردند، گروه‌های تجربی رازیانه با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.



نمودارb ۲- نمودار ستونی مقایسه سطح هورمون T_4 در نمونه سرم خون با استفاده از روش الایزا: کنترل: هیچ‌گونه ماده‌ای دریافت نکردند، شاهد: در طی ۱۴ روز آب مقطر دریافت کردند، گروه‌های تجربی رازیانه با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]



نمودار ۳- بررسی تغییرات بیان ژن‌های گیرنده هورمون تیروئید (α و β) در بافت تخمدان: کنترل: هیچ‌گونه ماده‌ای دریافت نکردند، شاهد: در طی ۱۴ روز آب مقطر دریافت کردند، گروه‌های تجربی رازیانه با دوز ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل در سطح ۵ درصد است.

بحث

طبق نتایج حاصل از تزریق عصاره رازیانه به مدت ۱۵ روز به موش‌های ماده، وزن موش‌ها در گروه تزریق رازیانه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل داشته است. میزان هورمون‌های تیروئیدی (T_3 و T_4) با تزریق عصاره رازیانه تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها نداشت. بررسی میزان بیان گیرنده هورمون تیروئید در بافت تخمدان نشان داد که گیرنده تیروئیدی α در گروه تزریق رازیانه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها داشته است. ولی میزان بیان گیرنده تیروئیدی β در هیچ‌کدام از گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و sham نداشته است.

اهمیت استفاده از گیاه رازیانه در تحقیقات متعدد، به علت وجود ماده آنتول است که یک فیتواستروژن بوده و دارای اثرات و خواص متعدد است. اکثر فیتواستروژن‌ها به گروه بزرگی از ترکیبات فنولی بانام فلاوونوئیدها تعلق دارند. به خاطر فعالیت زیستی فیتواستروژن‌ها، این ترکیبات استروژن‌هایی با منشأ گیاهی نیز نامیده شده‌اند. به علت شباهت ساختاری فیتواستروژن‌ها با هورمون زنانه استرادیول (β-17 استرادیول)، دارای اثرات مشابه با استروژن می‌باشند. Elsayed و همکاران معتقدند که این ترکیبات می‌توانند بر وزن بدن مؤثر باشند (۱۳).

در مطالعه ما وزن موش‌ها در گروه تزریق رازیانه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت. در مطالعه Alghamdi و همکاران (۱۴) که رازیانه با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش سوری نر به مدت ۵ هفته داده‌شده بود تغییرات معنی‌داری در وزن مشاهده نشد. Fadwa El-Ouady و همکاران نیز رازیانه را با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش صحرایی تجویز کردند و مشاهده کردند که تأثیری روی وزن بدن ندارد (۱۵). Pourjafari و همکاران به این نتیجه رسیدند که تجویز عصاره الکلی رازیانه با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن در موش سوری ماده حامله بدن باعث

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

افزایش معنی‌دار وزن بدن نسبت به گروه کنترل می‌شود (۱۶). نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که احتمالاً دوز رازیانه در تغییرات احتمالی وزن مؤثر است.

در مطالعه ما میزان هورمون‌های تیروئیدی (T_3 و T_4) با تزریق عصاره رازیانه تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها نداشت. در مطالعه Luaibi و همکاران (۱۷) بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ که روزانه در سه دوره مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰) روزه در سه دوز مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰) گرم بر گرم/کیلوگرم وزن بدن با رازیانه تغذیه می‌شدند هیچ تغییری در مقادیر هورمون تحریک‌کننده تیروئید (TSH)در کلیه دوره‌های زمانی و کلیه غلظت‌های رازیانه در مقایسه با گروه کنترل نشان داده نشد. کاهش معنی‌داری در سطح سرمی هورمون (T3) و تیروکسین (T4) در گروه‌های تحت درمان نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. این کاهش می‌تواند به علت دوز بیشتر رازیانه باشد. در مطالعه Alghamdi و همکاران که رازیانه با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش سوری نر به مدت ۵ هفته داده‌شده بود مشاهده شد که میزان TSH، T3 و T4 با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج آن‌ها مشابه نتایج ما بود (۱۴). در مطالعه Dehghani و همکاران بر موش صحرایی، به مدت ۴۵ روز با استفاده از گاواژ دوزهای ۱۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی زیره سیاه داده شد .نتایج نشان داد که T3 و T4 افزایش و TSH در دوزهای بالا به میزان قابل‌توجهی در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (۱۸).

هورمون‌های تیروئیدی بر سیستم تولیدمثل نیز اثر دارند (۱۹). عدم تعادل در هورمون‌های تیروئیدی باعث کاهش تعداد فولیکول‌های پریموردیال، رشد و فولیکول‌های آنترال می‌شود. اختلال در تنظیم غده تیروئید می‌تواند باعث اختلالات سیکل قاعدگی و تخمک‌گذاری شود (۹). در سلول‌های اپیتلیال سطح تخمدان (Ovarian surface Epithelial cell) ژن‌های مختلف مانند گیرنده‌های هورمون‌های تیروئیدی و گیرنده استروژن بیان می‌شوند (۲۰، ۲۱). Rae و همکاران نشان دادند که سلول اپیتلیال سطح تخمدان در پاسخ به T_3 بیان گیرنده استروژنی را افزایش می‌دهند (۲۱). Fedial و همکاران مشاهده کردند که هورمون‌های تیروئیدی نقش مهمی در رشد فولیکول‌های تخمدانی، بلوغ و حفظ عملکردهای مختلف اندوکرین بازی می‌کنند (۲۰). Sechman و همکاران به این نتیجه رسیدند هورمون‌های تیروئیدی در تنظیم محور هیپوفیز-تخمدان و فرآیندهای مرتبط با رشد و بلوغ فولیکول دخیل هستند (۲۲). در بررسی که توسط Fedial و همکاران انجام شد مشاهده کردند که ارتباطی بین مسیر سیگنالینگ گیرنده تیروئیدی و تکامل رشد فولیکول‌های تخمدانی در موش‌های نوزاد و نابالغ وجود دارد (۲۰). Zhang و همکاران نشان دادند که ایزوفرم‌های مختلف گیرنده تیروئیدی در اووسیت انسان وجود دارد و احتمالاً هورمون‌های تیروئیدی اثر مستقیمی بر روی اووسیت، سلول‌های گرانولوزا و کومولوس اافروس دارد (۲۳). ضمناً غربالگری هورمون تیروئید می‌تواند در درمان فولیکول‌های کیستیک مقاوم به درمان مفید باشد (۷).

در تحقیقی که توسط Malini و همکاران در سال ۱۹۸۵ انجام شد، نشان داده شد که تجویز خوراکی رازیانه به مدت ۱۰ روز در موش صحرایی ماده، در دوزهای کم باعث ایجاد سیکل قاعدگی، در دوزهای متوسط باعث افزایش وزن غدد جنسی و در دوزهای بالا موجب رشد مجاری، اندومتریوم، سرویکس و واژن شد (۲۴). کرم‌پور و همکاران نشان دادند که عصاره هیدروالکلی رازیانه باعث افزایش غلظت سرمی هورمون محرک فولیکولی (FSH) و کاهش هورمون زرده‌ای (LH) و تستوسترون در موش ماده مبتلابه سندروم تخمدان پلی‌کیستیک شد (۱۱). Khazaei و همکاران نشان دادند که رازیانه باعث القای فولیکوژنز در تخمدان موش ماده و افزایش تعداد فولیکول‌های تخمدانی در حال رشد می‌شود (۱). برعکس مطالعات بر روی موش صحرایی نر نشان می‌دهد که این گیاه باعث کاهش فعالیت سیستم تولیدمثلی جنس نر می‌شود. محققین نشان دادند که رازیانه در کاهش چشمگیر در میزان اسپرم‌ها، کاهش میزان هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون نقش دارد (۲۵، ۲۶).

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه رازیانه یک فیتواستوژن است و بر سیستم تولیدمثلی اثر دارد و با توجه به اینکه هورمون‌های تیروئیدی نیز نقش مهمی در عملکرد تخمدان دارند در این مطالعه ما خواستیم ارتباط بین تیروئید و تخمدان را باواسطه رازیانه پیدا کنیم. مطالعه ما نشان داد که رازیانه در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند باعث افزایش رسپتور هورمون‌های تیروئیدی شود. البته میزان هورمون T3 و T4 در مطالعه ما تغییر نکرد ولی میزان بیان رسپتور آن افزاش یافت؛ و این به این معنی است که احتمالاً پاسخ تخمدان به هورمون‌های تیروئیدی افزایش می‌یابد و بدین گونه می‌تواند در تنظیم عملکرد تخمدان نقش داشته باشد.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

تشکر و قدردانی

با تشکر از کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران و دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، کد اخلاق: ۹۵-۰۱-۱۱۷-۲۲۰۴۳

This research was supported by grant No: "92-01-117-22043" from "Iran University of Medical Sciences

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارضی وجود ندارد.

References

1. Khazaei M, Montaseri A, Khazaei MR, Khanahmadi M. Study of Foeniculum vulgare effect on folliculogenesis in female mice. International journal of fertility & sterility. 2011;5(3):122.
2. Eden JA. Phytoestrogens for menopausal symptoms: a review. Maturitas. 2012;72(2):157-9.
3. Sassarini J, Anderson RA. New pathways in the treatment for menopausal hot flushes. The Lancet. 2017;389(10081):1775-7.
4. Ekhtiari R, Mohebi H, Mansouri M. Investigating the effects of silver nanoparticles on salinity tolerance of fennel (Foeniculum vulgare Mill) in early growth under laboratory conditions. Journal of Plant and Biomass Research. 2011;7(27): 1-13, [In Persian].
5. Cvejić J, Bursać M, Atanacković M. Phytoestrogens:"estrogene-like" phytochemicals. Studies in Natural Products Chemistry. 38: Elsevier; 2012. p. 1-35.
6. Siahi M, Shiravi A, Heydari M. Effect of aqueous extract of fennel on prolactin hormone and lactation in Wistar Rat. Journal of Animal Biology. 2009;1(3): 55-63, [In Persian].
7. Mutinati M, Rizzo A, Sciorsci R. Cystic ovarian follicles and thyroid activity in the dairy cow. Animal reproduction science. 2013;138(3-4):150-4.
8. Delaram M, Sadeghian Z. Comparison of Effect of Spara and Fennel Extract on Primary Dysmenorrhea. Journal of Hamedan University of Medical Sciences & Health Services. 2011;18(1): 42-47, [In Persian].
9. Aghajanova L, Lindeberg M, Carlsson IB, Stavreus-Evers A, Zhang P, Scott JE, et al. Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. Reproductive biomedicine online. 2009;18(3):337-47.
10. Mojahed R, Movahedi M, Torabzadeh P. Investigation of Teratogenic Effects of Aqueous Extract of Fennel (Foeniculum vulgare) on BALB / C Mice Embryos during Pregnancy. Journal of Zanjan University of Medical Sciences. 2016;24(104):49-58.
11. Karampour P, Azarnia M, Mirabolghasemi G, Alizadeh F. Effect of hydroalcoholic extract of fennel on serum concentrations of sex hormones in female Wistar rats with polycystic ovarian syndrome. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2015;17(58-70), [In persian].
12. Kooti W, Moradi M-T, Ali-Akbari S, Sharafi-Ahvazi N, Asadi-Samani M, Ashtary-Larky D. Therapeutic and pharmacological potential of Foeniculum vulgare Mill: a review. Journal of HerbMed Pharmacology. 2014;4.
13. Elsayed D, Abdelrazek H, Eltamany D, Ebaid H, El-Nahla A. Effect of soy isoflavones on implantation losses in Wistar rat: implication of progesterone receptors, vascular endothelial growth factor and estradiol receptors alpha. Iranian Journal of Veterinary Research. 2020;21(1):46.
14. Alghamdi SA. Effect of Nigella sativa and Foeniculum vulgare seeds extracts on male mice exposed to carbendazim. Saudi Journal of Biological Sciences. 2020.
15. El-Ouady F, Lahrach N, Ajebli M, Haidani AE, Eddouks M. Antihyperglycemic effect of the aqueous extract of Foeniculum vulgare in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders). 2020;20(1):54-63.
16. Pourjafari F, Haghpanah T, Sharififar F, Nematollahi-Mahani SN, Afgar A, Karam GA, et al. Protective effects of hydro-alcoholic extract of foeniculum vulgare and linum usitatissimum on ovarian follicle reserve in the first-generation mouse pups. Heliyon. 2019;5(10):e02540.
17. Luaibi NM. Physiological, Hormonal and Histological Effects of Fennel Seeds (Foeniculum Vulgare) In THyroid and Testes of Male RAts. Plant Archives. 2018;18(1):341-53.
18. Dehghani F, Panjehshahin M, Vojdani Z. Effect of hydroalcoholic extract of caraway on thyroid gland structure and hormones in female rat. iranian Journal of Veterinary research. 2010;11(4):337-41.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

19. Tarım Ö. Thyroid hormones and growth in health and disease. Journal of clinical research in pediatric endocrinology. 2011;3(2):51.
20. Fedail JS, Zheng K, Wei Q, Kong L, Shi F. Roles of thyroid hormones in follicular development in the ovary of neonatal and immature rats. Endocrine. 2014;46(3):594-604.
21. Rae M, Gubbay O, Kostogiannou A, Price D, Critchley H, Hillier S. Thyroid hormone signaling in human ovarian surface epithelial cells. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2007;92(1):322-7.
22. Sechman A, Pawlowska K, Rzasa J. Influence of triiodothyronine (T3) on secretion of steroids and thyroid hormone receptor expression in chicken ovarian follicles. Domestic animal endocrinology. 2009;37(2):61-73.
23. Zhang SS, Carrillo AJ, Darling DS. Expression of multiple thyroid hormone receptor mRNAs in human oocytes, cumulus cells, and granulosa cells. Molecular human reproduction. 1997;3(7):555-62.
24. Naji T, Hossein Zadeh H, Samaie T, Amani Nejad P. Effect of Extract of Fennel (Foeniculum vulgare) on growth and maturation of oocytes in Trichogaster trichopterus gourami fish. Aquatic and Fishery Journal. 2013;4(14):52-8.
25. Rezaei T, Shirovi A, Keramati K. The effect of intraperitoneal injection of Foeniculum vulgare extract on gonadotropin and testosterone in male Wistar rats. Animal Biology. 2009;1(3): 39-45, [In persian].
26. Siahi M, Shiravi A, Heydari. Effect of aqueous Extract of fennel on Prolactin and Lactation in Wistar Rat. Journal of Animal Biology. 2009;1(3): 55-63, [In Persian].

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]

Original Article

Effect of Aqueous Extract of Foeniculum Vulgare on Thyroid Hormones and the Expression of its Receptors in the Ovaries of BALB/C Mice

Javadi F[1], Monireh Movahedi M[1*], Barati M [2], Amiri SM [1], Kushesh L [1], Golab F[3*]

1. Department of Cellular and Molecular Biology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran
2. Department of Biotechnology, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 06 Jun 2020 Accepted: 26 July 2020

Abstract

Background & Objective: Fennel (Foeniculum vulgare) is one of the ancient plants that has various medicinal effects. The main hormones produced by the thyroid gland are thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3), which regulate the body's growth and development. Thyroid hormones have two receptors called TRα and TRβ in different tissues. The present study aimed to investigate the effect of fennel aqueous extract on serum levels of thyroid hormones and the expression of thyroid receptors in ovarian tissue.

Materials & Methods: In this study, 40 female Balb/C mice weighing 18-20 g were used. Mice were divided into 5 groups of 8 including control, sham and intraperitoneal (IP) injection of 50, 100 and 200 mg/kg aqueous fennel extract for 14 days. The blood samples were then taken from the heart to measure thyroid hormone. The ovarian tissue was also sampled for real time thyroid receptor expression by PCR.

Results: Serum thyroid hormones, T3 and T4 were not changed by aqueous extract of fennel. The expression of receptor β did not have any significant change, but the expression of receptor α increased significantly by the 200 mg/kg of aqueous extract of fennel. The weights of the rats in 200 mg/kg of fennel decreased significantly.

Conclusion: Fennel may increase ovarian response to thyroid hormones in high dose.

Keywords: *Foeniculum vulgare*, Thyroid, hormones

***Corresponding Authors:**
1. Golab Fereshteh: Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email; Fgolab520@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-2829-7881
2. Movahhedi Monireh: Department of Cellular and Molecular Biology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran
Email: mon_movahedi@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0003-2868-2608

Journal of Fasa University of Medical Sciences 10 (2020): 2645-2654

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2020.10.3.14.8]