

## Interaction of Zinc Chloride with an Aromatase Inhibitor (Letrozole) on Anxiety in Adult Male Rats

Sahar Charghan<sup>\*1</sup>, Hooman Eshagh Harooni<sup>2</sup>, Ahmad Ali Moazedi<sup>3</sup>, Lotfolah Khaje-Pour<sup>4</sup>

1. MSc Student, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3. Professor, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4. Associate Professor, Department of Biology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 15 Mar 2016, Accepted: 10 Aug 2016

### Abstract

**Background:** Aromatase is an enzyme converts androstenedione and testosterone to estrone and estradiol, respectively. According to the role of testosterone and zinc in reducing anxiety and the relation between androgenic system function and zinc supplementations, in this research, the effect of zinc chloride injection was analysed in rats which aromatase enzyme was inhibited by aromatase inhibitor (letrozole).

**Materials and Methods:** Adult male Wistar rats (weighing 225±25 g) were used. Animals were divided into 12 groups and based on their weight, aromatase inhibitor (letrozole) was injected (subcutaneously), and 30 minutes later, ZnCl<sub>2</sub> or its solvent (saline) was injected intra-peritoneal. Control group was received both solvents (DMSO and saline) respectively. Anxiety levels were tested in the elevated plus maze 30 minutes after the last injection, and thereafter, open field was used for measurement of the locomotors activity of animals.

**Results:** The results showed a significant decrease in the percentage of time spent in open arms in letrozole (1.25 mg/kg) treated group as compared to that of solvent group. The locomotors activity significantly decreased between letrozole (1.25 mg/kg) with the control group. The combined groups received letrozole (2.5 mg/kg) and different amounts of zinc chloride (2.5, 5, 10 mg/kg), significantly reduced ( $p < 0.05$ ) the percentage of time spent in the open arm, comparing to the control group. Groups that received the combination of zinc chloride (2.5 mg/kg) and different amounts of letrozole (1.25, 5, 10 mg/kg), showed no significant difference in the percentage of entry and time spent in the open arms.

**Conclusion:** Totally, the present study suggests that letrozole alone increased anxiety and decreased locomotors activity and could interfere with anxiolytic effect of ZnCl<sub>2</sub> as well.

**Keywords:** Anxiety, Aromatase inhibitor, Letrozole, Rat, Zinc chloride.

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Email: s.charghan 65@gmail.com

## تداخل اثر کلراید روی با مهارکننده آنزیم آروماتاز (لتروزول) بر اضطراب در موش‌های صحرائی نر بالغ

سحر چرغان<sup>۱\*</sup>، هومن اسحق هارونی<sup>۲</sup>، احمد علی معاضدی<sup>۳</sup>، لطف‌اله خواجه پور<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳. استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۴. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۲۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** آروماتاز آنزیمی است که تبدیل آندروستندیون و تستوسترون به استرون و استرادیول را کاتالیز می‌کند. با توجه به نقش تستوسترون و روی در کاهش اضطراب و ارتباط بین عملکرد سیستم آندروژنی و روی، در این تحقیق اثر تزریق کلراید روی در موش‌هایی بررسی شد که آنزیم آروماتاز در آن‌ها توسط مهارکننده آروماتاز (لتروزول) مهار شده است.

**مواد و روش‌ها:** از موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی  $225 \pm 25$  گرم استفاده گردید. حیوانات به ۱۲ گروه تقسیم شدند و بر اساس وزن خود مهارکننده آروماتاز (لتروزول) را به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند. ۳۰ دقیقه بعد، کلراید روی یا حلال آن سالیان را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه کنترل به ترتیب حلال DMSO و سالیان دریافت کرد. ۳۰ دقیقه بعد از آخرین تزریق میزان اضطراب در دستگاه ماز به علاوه مرتفع سنجیده شد. فعالیت حرکتی حیوانات توسط دستگاه میدان باز اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از تست اضطراب، کاهش معنی‌داری در درصد زمان حضور در بازوی باز بین لتروزول ( $1/25$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه حلال نشان داد. از نظر فعالیت حرکتی کاهش معنی‌داری بین لتروزول ( $1/25$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه حلال مشاهده شد. گروه‌های دریافت‌کننده توأم لتروزول ( $2/25$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مقادیر مختلف کلراید روی، کاهش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در درصد زمان حضور در بازوی باز نسبت به گروه حلال نشان دادند. در گروه‌های دریافت‌کننده توأم کلراید روی ( $2/5$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مقادیر مختلف لتروزول، اختلاف معنی‌داری از نظر درصد ورود و زمان سپری شده در بازوی باز با گروه حلال مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع، یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که لتروزول به تنهایی باعث افزایش اضطراب و کاهش فعالیت حرکتی می‌شود و هم‌چنین با اثر ضد اضطرابی کلرایدروی تداخل ایجاد می‌کند.

**واژگان کلیدی:** اضطراب، مهارکننده آروماتاز، لتروزول، موش صحرائی، کلرایدروی.

\*نویسنده مسئول: ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

Email: s.charghan 65@gmail.com

## مقدمه

بیماری‌های عصبی در زمره شناخته‌شده‌ترین بیماری‌هایی هستند که همواره گریبان‌گیر انسان بوده، از جمله آن‌ها اضطراب و افسردگی شایع‌ترین بیماری‌های روانی عاطفی است که توسط استرس در انسان ایجاد می‌شود (۱). اضطراب عبارت است از افزایش بی‌قراری و تحریک‌پذیری که به صورت تغییرات رفتاری ظاهر می‌شود و با علائمی نظیر فشردگی قفسه سینه، تنگی نفس، تپش قلب، تعریق، سرگیجه، آشفتگی روانی، اشکال در تمرکز حواس و مشکل در حافظه همراه است (۲). در طی دهه گذشته نتایج مطالعات اپیدمیولوژی در سرتاسر جهان نشان داد اختلالات اضطرابی شایع‌ترین گروه اختلالات روانی هستند. در مطالعه‌ای که سال ۱۳۹۰-۱۳۸۹ در ایران انجام گرفت اختلالات اضطرابی در مردان و زنان به ترتیب ۱۲ درصد و ۱۹/۴ درصد به دست آمده است که این میزان از اکثر کشورهای شرکت‌کننده در پیمایش جهانی سلامت بالاتر است (۳). تزریق تستوسترون و متابولیت‌های آن سبب کاهش اضطراب در موش‌های نر بالغ می‌گردد و تستوسترون در مهار ترس و اضطراب نقش دارد (۴). استروژن نیز خاصیت ضد اضطرابی دارد (۵). روی یک عنصر ضروری در رشد و تولیدمثل در مردان و زنان است (۶). کمبود روی منجر به ایجاد اثرات اضطرابی و افسردگی شده است (۷)، که احتمالاً میزان برخورداری کافی از روی دارای اثرات ضد اضطرابی و ضد افسردگی در تست‌های مختلف رفتاری است. این در حالی است که شاخص‌های اضطراب را در موش‌های گنادکتومی شده به شدت افزایش می‌دهد و این یافته‌ها نشان می‌دهد که اثرات روی در شرایط گنادکتومی عکس اثرات آن در موش‌های دست نخورده است (۸). روی باعث افزایش میزان تولید تستوسترون در بدن می‌گردد و تداخل این دو سیستم را با هم نشان می‌دهد (۸). آروماتاز آنزیمی است که توسط مهارکننده‌های نسل سوم (آناستروزول و لتروزول) به خوبی مهار می‌شود، بدون این‌که اختلالی در سنتز سایر استروئیدها به وجود آید (۹). مهارکننده‌های آروماتاز تولید استروژن را با مهار آخرین مرحله در کاتالیز سنتز استروژن (۱۰) توسط

سیتوکروم که یک آنزیم پیچیده‌ی آروماتاز است سرکوب می‌کنند (۱۱).

لذا هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر مهار آنزیم آروماتاز و همچنین سنجش اثر کلراید روی در شرایط مهار آنزیم آروماتاز بر اضطراب و فعالیت حرکتی.

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع مداخله‌ای- تجربی و از نوع آزمایشگاهی بود. برای انجام این کار تحقیقاتی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی  $25 \pm 25$  گرم استفاده گردید. حیوانات مورد آزمایش از مرکز تهیه و توزیع حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دام‌پزشکی شهید چمران اهواز تهیه گردید. حیوانات تحت شرایط ۱۲ ساعت روشنایی (۷-۱۹) و ۱۲ ساعت تاریکی (۷-۱۹) و دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد همراه با تهویه نگهداری شدند. حیوانات (۹۶ سر موش صحرایی) به طور تصادفی به ۱۲ گروه تقسیم شدند و در هر گروه تعداد ۷ تا ۹ سر موش قرار گرفت، که به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند. گروه کنترل شامل گروه بدون دریافت دارو (۸ سر)، گروه حلال دریافت‌کننده سالین و DMSO (۹ سر)، گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر مختلف لتروزول (Letrozole) شامل: ۱- گروه دریافت‌کننده لتروزول  $1/25 \text{ mg/kg}$  + سالین (۸ سر) ۲- گروه دریافت‌کننده لتروزول  $2/5 \text{ mg/kg}$  + سالین (۹ سر) ۳- گروه دریافت‌کننده لتروزول  $5 \text{ mg/kg}$  + سالین (۸ سر) ۴- گروه دریافت‌کننده لتروزول  $10 \text{ mg/kg}$  + سالین (۸ سر)، گروه‌های دریافت‌کننده کلراید روی + لتروزول شامل: ۱- گروه دریافت‌کننده کلراید روی  $2/5 \text{ mg/kg}$  + لتروزول  $2/5 \text{ mg/kg}$  (۷ سر)، ۲- گروه دریافت‌کننده کلراید روی  $5 \text{ mg/kg}$  + لتروزول  $5 \text{ mg/kg}$  (۷ سر) ۳- گروه دریافت‌کننده کلراید روی  $10 \text{ mg/kg}$  + لتروزول  $2/5 \text{ mg/kg}$  (۷ سر)، گروه‌های

کشی شده و نمونه خون آن‌ها جهت اندازه‌گیری میزان تستوسترون سرم جمع آوری شد. در این مرحله پس از بی‌هوش نمودن حیوانات و گرفتن خون از قلب آن‌ها، سرم خون توسط سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) جدا گردید و میزان تستوسترون آن توسط کیت تستوسترون (شرکت ایده آل تشخیص آتیه) و دستگاه الیزا ریدر (بیوراد) اندازه‌گیری شد.

داده‌های حاصل از تست‌های رفتاری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۸ و روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی آماری قرار گرفت. در صورت معنی‌دار بودن مقایسات کلی، Post hoc LSD Test مورد استفاده قرار می‌گرفت. در نمودارها میانگین‌ها به صورت Mean±SEM نمایش داده شده‌اند. در تمام مقایسه‌های انجام‌شده سطح معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

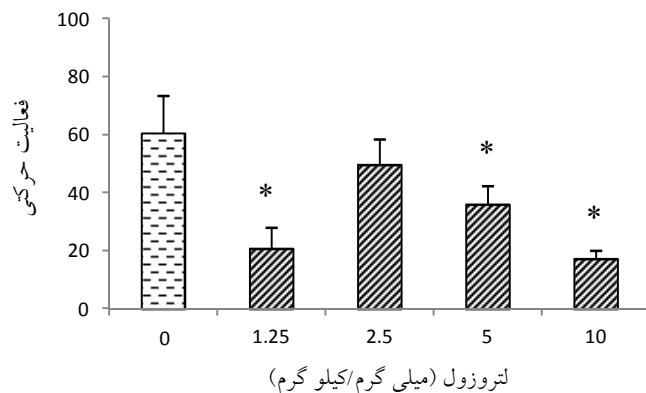
در این آزمایش لتروزول به صورت زیرپوستی تزریق شد و یک ساعت پس از تزریق، اضطراب حیوانات در ماز به علاوه مرتفع بررسی گردید و شاخص‌های اضطراب شامل زمان سپری‌شده در بازوی باز و تعداد ورود به بازوهای باز و بسته ثبت گردید. بر اساس آنالیزهای آماری گروه دریافت‌کننده لتروزول (۱/۲۵ mg/kg) نسبت به گروه حلال، کاهش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) را در درصد تعداد ورود و زمان سپری‌شده در بازوی باز نشان داد. در صورتی که در سایر گروه‌ها در درصد تعداد ورود و زمان سپری‌شده در بازوهای باز با گروه حلال اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (نمودار ۱). نتایج آزمون فعالیت حرکتی در گروه‌های دریافت‌کننده لتروزول نشان داد که مقادیر ۱/۲۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم باعث کاهش فعالیت حرکتی گردیده است که در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) می‌باشد (نمودار ۲).

دریافت‌کننده لتروزول + کلراید روی شامل: ۱- گروه دریافت‌کننده لتروزول ۱/۲۵ mg/kg + کلراید روی mg/kg ۵/۲ (سر) ۲، ۲- گروه دریافت‌کننده لتروزول ۵ mg/kg + کلراید روی ۲/۵ mg/kg (سر) ۳، ۳- گروه دریافت‌کننده لتروزول ۱۰ mg/kg + کلراید روی ۲/۵ mg/kg (سر).

در این کار پژوهشی اثر تداخل کلراید روی با مهارکننده آنزیم آروماتاز (لتروزول) بر اضطراب بررسی گردید. حیوانات مقادیر مختلف لتروزول (تزریق زیرپوستی) و کلراید روی (تزریق درون صفاقی) را به ترتیب ۶۰ و ۳۰ دقیقه قبل از تست اضطراب دریافت کردند و شاخص‌های اضطرابی حیوانات در ماز به علاوه مرتفع (ساخت شرکت برج صنعت) بررسی گردید. دستگاه ماز به علاوه به عنوان یک مدل غیر شرطی جهت تولید و سنجش اضطراب در جوندگان محسوب می‌گردد. اجزای تشکیل‌دهنده این دستگاه دو بازوی باز و دو بازوی بسته مقابل هم می‌باشند. هر چهار بازو دارای سقف باز می‌باشند. طول هر بازو ۵۰ سانتی‌متر و پهنای آن‌ها ۱۰ سانتی‌متر می‌باشد. بازوهای بسته دارای دیواره‌ای به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر می‌باشند و در مرکز نیز مربع ۱۰ در ۱۰ سانتی‌متر بازوها را به هم مرتبط می‌کند. دستگاه به میزان ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین ارتفاع داشته و ۱/۵ متر بالاتر از آن یک لامپ ۱۴ وات با پردازش نوری یکتواخت قرار گرفته است. در دستگاه ماز به علاوه مرتفع رفتار اضطرابی به معنی حرکت به محدوده بازوهای بسته تفسیر می‌گردد (۱۲). سپس حیوانات برای بررسی فعالیت حرکتی به صورت انفرادی در دستگاه ثبت فعالیت حرکتی (ساخت شرکت برج صنعت) قرار گرفتند. این دستگاه دارای یک جعبه مربعی شفاف و سنسورهای حساس به حرکت در کف جعبه می‌باشد که حیوان در درون آن قرار داده می‌شود. این دستگاه تعداد حرکات حیوان بر روی صفحه دستگاه را در فاصله زمانی مورد نظر (۵ دقیقه) محاسبه می‌کند. پس از اتمام آزمایش‌های رفتاری موش‌ها آسان



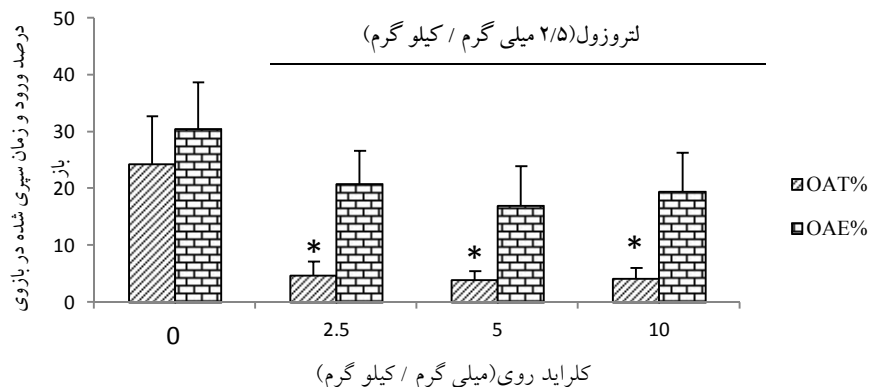
نمودار ۱. اثر لتروزول بر رفتار اضطراب در ماز به علاوه مرتفع: ستون‌ها  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  را نشان می‌دهند.  $p < 0.05$  \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار لتروزول ( $1/25 \text{ mg/kg}$ ) در مقایسه با گروه حلال (دریافت‌کننده حلال) می‌باشد. OAT% = درصد زمان سپری‌شده در بازوی باز OAE% = درصد تعداد ورود به بازوی باز. (تعداد موش‌ها در هر گروه بین ۷ تا ۹ عدد متغیر بود).



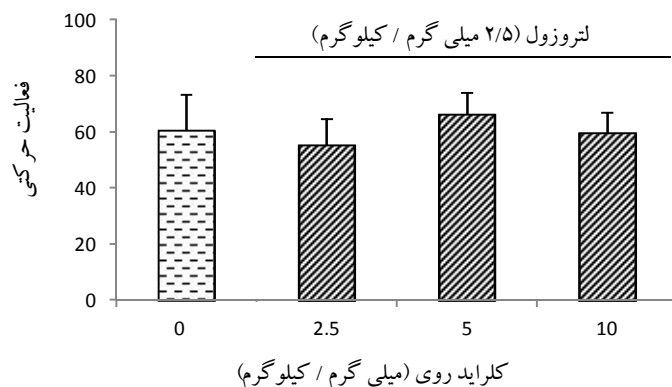
نمودار ۲. اثر لتروزول بر فعالیت حرکتی در دستگاه میدان باز: ستون‌ها  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  تعداد عبور از مربع‌های میدان باز را نشان می‌دهند.  $p < 0.05$  \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار فعالیت حرکتی نسبت به گروه شاهد (حلال) است.

مشاهده شد. مقایسه آماری بین گروه‌های تداخلی از نظر درصد تعداد ورود به بازوهای باز (نمودار ۳) و میزان فعالیت حرکتی (نمودار ۴) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری با گروه حلال نبود.

آنالیزهای آماری بین گروه‌های دریافت‌کننده توأم لتروزول ( $2/5 \text{ mg/kg}$ ) و مقادیر مختلف کلرایدروی ( $10 \text{ mg/kg}$ ،  $5$ ،  $2/5$ )، با گروه حلال بر اضطراب انجام گرفت. در هر سه گروه تداخلی کاهش معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) در درصد زمان حضور در بازوی باز نسبت به گروه حلال



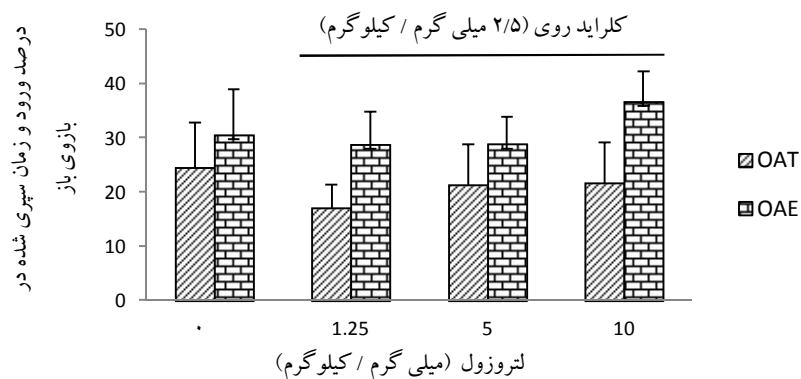
نمودار ۳. اثر تداخلی کلراید روی و لتروزول بر رفتار اضطراب در ماز به علاوه مرتفع: ستون‌ها Mean  $\pm$  SEM را نشان می‌دهند.  $p < 0.05$  \* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار تداخل لتروزول ۲/۵ mg/kg و کلراید روی (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg) در مقایسه با گروه حلال می‌باشد.



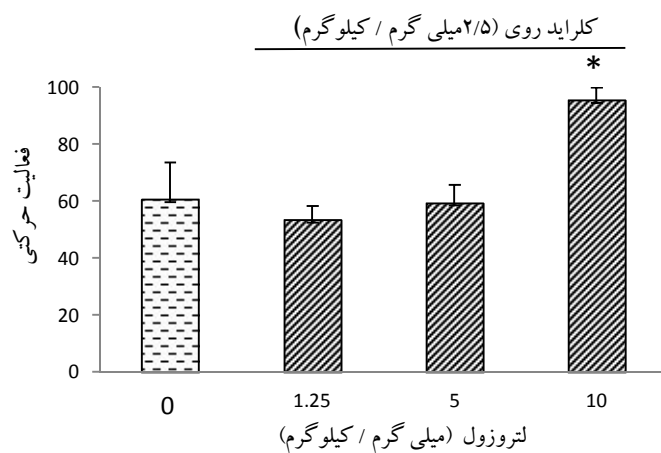
نمودار ۴. اثر تداخلی مقادیر مختلف کلراید روی و لتروزول بر فعالیت حرکتی در دستگاه میدان باز: ستون‌ها Mean  $\pm$  SEM تعداد عبور از مربع‌های میدان باز را نشان می‌دهند. (تعداد موش‌ها در هر گروه بین ۷ تا ۹ عدد متغیر بود).

مشاهده نشد (نمودار ۵). از طرفی میزان فعالیت حرکتی در گروه دریافت‌کننده توام کلراید روی ۲/۵ میلی‌گرم و لتروزول ۱۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل نشان داد (نمودار ۶).

آنالیزهای آماری بین گروه‌های دریافت‌کننده توام کلراید روی ۲/۵ mg/kg و مقادیر مختلف لتروزول (۱۰، ۵، ۲/۵ mg/kg) با گروه حلال بر اضطراب انجام گرفت و اختلاف معنی‌داری در این گروه‌های تداخلی از نظر درصد ورود و زمان سپری شده در بازوی با گروه حلال



نمودار ۵. اثر تداخلی کلراید روی و لتروزول بر رفتار اضطراب در ماز به علاوه مرتفع: ستون‌ها Mean  $\pm$  SEM را نشان می‌دهند. OAT = درصد زمان سپری شده در بازوی باز OAE = درصد تعداد ورود به بازوی باز. (تعداد موش‌ها در هر گروه بین ۷ تا ۹ عدد متغیر بود).



نمودار ۶. اثر تداخلی مقادیر مختلف لتروزول و کلراید روی بر فعالیت حرکتی در دستگاه میدان باز: ستون‌ها Mean  $\pm$  SEM را نشان می‌دهند. (تعداد موش‌ها در هر گروه بین ۷ تا ۹ عدد متغیر بود).

نتایج مربوط به اندازه گیری غلظت تستوسترون در سرم خون در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. اندازه گیری میزان تستوسترون سرم خون موش های صحرایی در گروه های دریافت کننده لتروزول و گروه های تداخلی دریافت کننده لتروزول و کلراید روی.

experiment	1st injection	2nd injection	Testosterone (ng/ml)	Significance (vs. control)
1	DMSO	Saline	1.6985±0.09	Control
	Letrozole 1.25mg/kg	Saline	1.2144±0.06	*
	Letrozole 2.5mg/kg	Saline	missed	-
	Letrozole 5mg/kg	Saline	1.9657±0.13	-
	Letrozole 10mg/kg	Saline	1.3565±0.09	*
2	Letrozole 1.25mg/kg	ZnCl2 2.5mg/kg	3.85±0.58	*
	Letrozole 2.5mg/kg	ZnCl2 2.5mg/kg	3.2624±0.39	*
	Letrozole 5mg/kg	ZnCl2 2.5mg/kg	1.5535±0.03	-
	Letrozole 10mg/kg	ZnCl2 2.5mg/kg	4.0877±0.93	*
3	Letrozole 2.5mg/kg	ZnCl2 2.5mg/kg	3.2624±0.39	-
	Letrozole 2.5mg/kg	ZnCl2 5mg/kg	6.6817±0.92	*
	Letrozole 2.5mg/kg	ZnCl2 10mg/kg	4.749±0.67	*

\* The mean difference is significant at the 0.05 level.

## بحث

روی (۲/۵mg/kg) در هیچ کدام از گروه ها تاثیر معنی داری بر اضطراب نداشت، که ممکن است ناشی از افزایش در فعالیت حرکتی باشد.

مطالعات متعدد در زمینه اضطراب، نقش محوری برخی هورمون ها را در رفتار اضطرابی نمایان می سازد. از مهم ترین این هورمون ها، آندروژن ها به ویژه تستوسترون می باشد که سبب تفاوت در رفتارهای اضطرابی بین جنس نر و ماده می گردد (۱۴، ۱۵). هم چنین پژوهش های فراوانی ارتباط بین جنسیت و اختلالات اضطرابی را تأیید می کنند (۱۶). در مطالعه ای که پیرل شتاین (۱۹۹۷) و همکارانش انجام دادند، مشخص گردید که برخی از آثار ضد اضطرابی هورمون تستوسترون می تواند به وسیله متابولیت های آن صورت پذیرد (۱۷). در تأیید این مطلب فرای و ادینگر (۲۰۰۴) نشان دادند که با مسدود کردن مسیر متابولسمی تبدیل دی هیدروتستوسترون به آندروستندیول با ایندومتاسین که یک مهارکننده اختصاصی دهیدروژناز می باشد، رفتار اضطرابی در تست صفحه باز و ماز به علاوه مرتفع افزایش می یابد (۱۸). در این آزمایش نیز غلظت تستوسترون سرم خون، در گروه هایی

در آزمایش بررسی تأثیر لتروزول بر اضطراب، لتروزول به صورت زیر جلدی ۶۰ دقیقه و حلال کلراید روی (سالین)، ۳۰ دقیقه قبل از تست اضطراب به حیوانات تزریق شدند، سپس اضطراب حیوانات به وسیله دستگاه ماز به علاوه مرتفع، با در نظر گرفتن پارامترهای درصد زمان حضور در بازوی باز و تعداد ورود به بازوهای باز و بسته سنجیده شد. نتایج حاصل از این بخش از مطالعه نشان داد که لتروزول باعث افزایش اضطراب می شود، که با برخی از گزارشات قبلی هم خوانی دارد. هر چند ممکن است اثرات اضطراب زایی لتروزول ناشی از کاهش فعالیت حرکتی حیوانات مورد آزمایش باشد.

تزریق زیر پوستی مقدار غیر موثر لتروزول و تزریق درون صفاقی مقادیر مختلف کلراید روی باعث کاهش معنی دار اثر ضد اضطرابی کلراید روی شد و در هر سه گروه تداخلی باعث افزایش معنی دار اضطراب به یک اندازه در مقایسه با گروه دریافت کننده حلال شد، که توانسته اثر ضد اضطرابی کلراید روی را خنثی کند. نوایی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که تزریق کلراید روی به صورت درون صفاقی در حیوانات موجب کاهش اضطراب و افسردگی می گردد (۱۳). هم چنین تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف لتروزول و تزریق درون صفاقی مقدار غیر موثر کلراید



که افزایش اضطراب داشتند ( $1/25\text{mg/kg}$ ،  $10$ )، کاهش یافته بود.

پیرل شتاین و همکارانش نشان دادند که هورمون تستوسترون می‌تواند توسط آنزیم آروماتاز به استروژن تبدیل شود و به این طریق سبب کاهش رفتار اضطرابی در انسان‌ها و حیوانات گردد (۱۷).

آلمیدا و همکاران در سال ۲۰۰۴ دریافتند که مهار آندروژن‌ها برای درمان سرطان پروستات، باعث افزایش اضطراب و افسردگی می‌شود که با قطع دارو این عوارض از بین می‌روند (۱۹). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد، تزریق زیر پوستی مقدار غیرموثر لتروزول و تزریق درون صفاقی مقادیر مختلف کلراید روی باعث کاهش معنی‌دار اثر ضد اضطرابی کلراید روی شد و در هر سه گروه تداخلی باعث افزایش معنی‌دار اضطراب به یک اندازه در مقایسه با گروه دریافت کننده حلال شد. در واقع لتروزول مانع اثرات ضد اضطرابی کلراید روی شد.

هم‌چنین تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف لتروزول و تزریق درون صفاقی مقدار غیر موثر کلراید روی ( $2/5\text{mg/kg}$ ) در هیچ کدام از گروه‌ها تاثیر معنی‌داری بر اضطراب نداشت، که ممکن است ناشی از افزایش در فعالیت حرکتی باشد. در ارتباط با تداخل کلراید روی و استروژن در مطالعه سانار و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده شد که سطح استروژن و پروژسترون در موش‌های اواریکتومی کاهش یافت و این کاهش در موش‌های اواریکتومی با فقر روی، بیشتر بود. موش‌های اواریکتومی تیمار شده با روی سطح استروژن و پروژسترون بالاتری نسبت به گروه اواریکتومی با فقر روی داشتند که نشان‌دهنده رابطه بین روی و سنتز استروژن بود (۲۰).

در مطالعه‌ای کونتراس و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند، در زنان یائسه ترشح و دفع روی از کلیه‌ها افزایش می‌یابد، به طوری که از آزمایش میزان روی موجود در ادرار زنان می‌توان به شروع یائسگی در آنان پی برد (۲۱). پس بین سطح استروژن و روی یک ارتباط دوطرفه وجود دارد؛ زیرا کاهش سطح روی باعث کاهش سنتز استروژن و پروژسترون

و از طرف دیگر کاهش استروژن باعث کاهش سطح روی سرمی می‌شود.

برای مثال نتایج مطالعه موسوی و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که تزریق داخل صفاقی کلراید روی به موش‌های سالم ماده، باعث افزایش اضطراب در آن‌ها شد که وابسته به مقدار روی بود. به عبارتی اضطراب با افزایش غلظت کلراید روی نیز افزایش یافت (۲۲). از طرف دیگر این نتایج با اثر روی در کاهش اضطراب موش‌های صحرائی نر هم‌خوانی نداشت (۱۳). در مطالعه کایدی و همکاران (۱۳۹۳) که تداخل اثر کلراید روی و سیستم آندروژنی بر میزان اضطراب در موش‌های صحرائی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفت، گزارش کردند که تزریق داخل صفاقی کلراید روی در موش‌های نر گنادکتومی شده، باعث افزایش اضطراب گردید. تزریق توأم فلوتاماید و روی نشان داد که نبود تستوسترون (چه به صورت نبود گنادها و چه بلوک گیرنده‌های آندروژنی) می‌تواند زمینه را برای اضطراب‌زا بودن روی آماده کند (۸).

هم‌چنین در مطالعه دیگری ترابی و همکاران (۲۰۱۳)، نشان دادند که تزریق اکسیدروی به موش‌های نر سالم، سبب کاهش اضطراب شده بود (۲۳). در کمبود روی سلول‌های بیضه قادر به گرفتن کلسترول و چربی‌های خنثی که (پیش‌سازهای استروئیدهای جنسی‌اند) هستند، اما قادر به تبدیل آن‌ها به استروئیدهای جنسی نیستند که منجر به اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز و لقاح می‌شوند (۲۴).

گیرنده‌های تستوسترون دارای یک جزء اتصال با روی می‌باشند و گزارش شده است در اندام‌های تولیدمثلی موش‌های با کمبود روی، تعداد گیرنده آندروژن به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. هم‌چنین مشاهده شده که کمبود روی در رژیم غذایی باعث کاهش وزن بدن می‌شود. کمبود مزمن روی باعث عقب ماندگی رشد، هیپو گنادیسم در مردان و موجب بی‌اشتهایی می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که در موش‌های صحرائی نر کمبود روی در رژیم غذایی به طور قابل توجهی سطوح در حال گردش LH و تستوسترون را کاهش می‌دهد و این کمبود اثر خود را بر غدد تناسلی و یا

مقادیر مختلف لتروزول به جز مقدار (۲/۵ میلی گرم/کیلوگرم) باعث کاهش فعالیت حرکتی شد.

تداخل مقادیر غیر موثر لتروزول (۲/۵ میلی گرم/کیلوگرم) با مقادیر مختلف کلراید روی باعث افزایش اضطراب شد و لتروزول مانع اثرات ضد اضطرابی کلراید روی گردید. از طرف دیگر تزریق کلراید روی در این گروه‌ها مانع اثر کاهش‌دهنده لتروزول بر فعالیت حرکتی شد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران به خاطر تامین منابع مالی انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند. هم‌چنین از جناب آقای دکتر نقدی مدیر عامل محترم شرکت دارو پخش به خاطر حمایت بی‌دریغ در تهیه دارو صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایم.

### منابع

- 1-Pellow S. Anxiolytic and anxiogenic drug effects in a novel test of anxiety: are exploratory models of anxiety in rodents valid? *Method Find Exp Clin* 1986; 8(9): 557.
- 2-Degroot A, Treit D. Dorsal and ventral hippocampal cholinergic systems modulate anxiety in the plus-maze and shock-probe tests. *Brain Res*, 2002; 949(1): 60-70.
- 3-Rahimi MA, Muhammad N. National Mental Health survey. *prevalence of psychiatric disorders in Iran* 2011; 1-9.
- 4-Lound TD, Lephart ED. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze. *Brain Res*, 2001; 913(2): 180-184.
- 5-Walf AA, Frye CA. Antianxiety and antidepressive behavior produced by physiological estradiol regimen may be modulated by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Neuropsychopharmacol* 2005; 30(7): 1288-1301.
- 6-Chen CV, Brummet JL, Lonstein JS, Jordan CL, Breedlove SM. (2014). New knockout model confirms a role for

دستگاه هیپوتالاموس/هیپوفیز اعمال می‌کند. روی در تولید و ترشح LH، FSH و پرولاکتین نقش دارد و این‌ها به نوبه خود تولید تستوسترون را تنظیم می‌کنند. به طور مشابه گزارش شده مسدود (بلوک کردن) گیرنده آندروژنی، برای درمان سرطان پروستات باعث افزایش اضطراب می‌شود که زمانی که درمان به پایان رسید، برطرف شده بود (۲۴). در حالت عادی تستوسترون نقش ضد اضطرابی دارد ولی در عدم تعادل با استروژن نقش اضطراب‌زایی دارد. احتمالاً دریافت لتروزول باعث به هم خوردن تعادل تستوسترون و استروژن می‌شود که می‌تواند موجب افزایش اضطراب گردد و مانع از اثرات ضد اضطرابی روی گردد. با این حال نتایج متناقضی از اثر روی بر تستوسترون گزارش گردیده است. برای مثال لویی و همکاران که اثرات روی را در موش بررسی کرده‌اند، گزارش می‌دهند، روی موجب کاهش تستوسترون می‌شود و علت آن را آسیب جدی سلول‌های لایدیگ می‌دانند (۲۵). مطالعه دیگری نیز گزارش می‌دهد که روی و ترکیبات آن می‌توانند موجب کاهش تستوسترون بشوند (۲۶). روی از دو طریق بر سلول‌های ژرمینال اثر می‌کند. در روش مستقیم از طریق تأثیر بر بیان ژن‌ها باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز می‌گردد و در روش غیرمستقیم از طریق تخریب سلول‌های لایدیگ و کاهش سطح تستوسترون سلول‌های ژرمینال را تحت تأثیر قرار می‌دهد. روی با اثرات سویی که بر سلول‌های لایدیگ دارد موجب کاهش تستوسترون می‌شود، اما با توجه به فیدبک منفی بین LH و تستوسترون به نظر می‌رسد با کاهش تستوسترون مقدار LH افزایشی را نشان دهد، ولی چون روی از سد خونی مغزی می‌تواند عبور کند، بر روی سلول‌های گونادوتروف هیپوفیزی نیز اثر تخریبی می‌تواند داشته باشد که موجب کاهش هورمون LH نیز شده است که حاکی از اثر روی بر سلول‌های لایدیگ و گونادوتروف‌های هیپوفیزی است (۲۷).

### نتیجه‌گیری

براساس مطالعه حاضر، لتروزول در مقدار ۱/۲۵ میلی گرم/کیلوگرم باعث افزایش اضطراب شد. اما تزریق

- androgen receptors in regulating anxiety-like behaviors and HPA response in mice. *Horm Behav* 2014; 65(3): 211-218.
- 7-Tamano H, Kan F, Kawamura M, Oku N, Takeda A. Behavior in the forced swim test and neurochemical changes in the hippocampus in young rats after 2-week zinc deprivation. *Neurochem Int* 2009; 55(7): 536-541.
- 8-Kayedi Bakhtiari N., Eshagh Harooni H., Moazedi, A. A., Mohammadi, M. (2014). [Effect of zinc chloride on anxiety and its interaction with the androgenic system in adult male rats]. *J Physiol Pharmacol*, 2014; 18 (2): 258-249.
- 9-Mousavi AS. The use of third-generation aromatase inhibitors in gynecology. *J Obstet Gynecol* 2010; 5(2): 66-61.
- 10-Kessler RC, Brandenburg N, Lane M, Roy-Byrne P, Stang PD, Stein DJ, *et al.* Rethinking the duration requirement for generalized anxiety disorder: evidence from the National Comorbidity Survey Replication. *Psychol Med*, 2005; 35(07): 1073-1082.
- 11-Howell A, Wakeling A. Clinical studies with anastrozole. In *Aromatase Inhibitors. Birkhäuser Basel*, 2006; 95-118.
- 12-Carobrez AP, Bertoglio LJ. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev* 2005; 29(8): 1193-1205.
- 13-Navabi P, Moazedi AA, Eshagh Harooni H, Khajepour L. [Dual Effects of dexamethasone on anxiety and depression in adult male rats.] *J Physiol Pharmacol* 2013; 17 (2): 249-24.
- 14-Aikey JL, Nyby JG, Anmuth DM and James PJ. Testosterone rapidly reduces anxiety in male house mice (*Mus musculus*). *Horm Behav* 2002; 42(4), 448-460.
- 15-Caumo W, Schmidt AP, Schneider CN, Bergmann J, Iwamoto CW, Bandeira D, Ferreira MBC. Risk factors for preoperative anxiety in adults. *Acta Anaesth Scand* 2001; 45(3): 298-307.
- 16-Kudielka BM, Hellhammer DH, Kirschbaum C. Sex differences in human stress response. New York: Academic Press, 2000; 3: 424-429.
- 17-Pearlstein T, Rosen K, Stone AB. Mood disorders and menopause. *Endocrin Metab Clin* 1997; 26(2): 279-294.
- 18-Frye CA, Edinger KL. Testosterone's metabolism in the hippocampus may mediate its anti-anxiety effects in male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 78(3): 473-481.
- 19-Almeida OP, Waterreus A, Spry N, Flicker L, Martins RN. One year follow-up study of the association between chemical castration, sex hormones, beta-amyloid, memory and depression in men. *Psychoneuroendocrinology* 2004; 29(8): 1071-1081.
- 20-Sunar F, Baltacci AK, Ergene N, Mogulkoc R. Zinc deficiency and supplementation in ovariectomized rats: their effect on serum estrogen and progesterone levels and their relation to calcium and phosphorus. *Pakistan J Pharmaceut Sci* 2009; 22(2):150-4.
- 21-Contreras F, Simonovis N, Fouillieux C, Bolívar A, Cevallos JL, Lezama E, Velasco M. Zincuria and zincemia in postmenopausal osteoporosis. In *International Congress Series Elsevier* 2002; 1237, pp. 219-229.
- 22-Mousavi M. The effect of zinc chloride on the anxiety in ovariectomized female mice. [dissertation] Ahvaz, Shahid Chamran University of Ahvaz. 2015.
- 23-Torabi M, Kesmati M, Eshagh Harooni H, Najafzadeh Varzi H. Effects of nano and conventional Zinc Oxide on anxiety-like behavior in male rats. *Indian J Pharmacol* 2013; 45(5): 508-512.
- 24-Om AS, Chung KW. Dietary zinc deficiency alters 5 $\alpha$ -reduction and aromatization of testosterone and androgen and estrogen receptors in rat liver. *J Nutrition* 1996; 126(4): 842-848.
- 25-Liu JY, Stemmer KL. Interaction between aluminum and zinc or copper and its effects on the pituitary-testicular axis. II. Testicular enzyme and serum gonadotropin

assay. *Biomed Environ Sci*, 1990; 3(1): 11-19.

26-Park JD, Habeebu SS, Klaassen CD. Testicular toxicity of di-(2-ethylhexyl) phthalate in young Sprague–Dawley rats. *Toxicology* 2002; 171(2): 105-115.

27-Sohrabi D, Gholami M, Asadi F. Chronic effects of zinc (Zn) on testicular tissue, testosterone and pituitary gonadotropins in adult male rats (RAT). *J Qom Uni Med Sci* 2012; 2 (3): 6-1.