

## **In Utero and Lactational Effects of Aqueous *Foeniculum Vulgare* (Fennel) Seed Extract on Puberty Timing, Estrus Cycle and Sexual Behavior in Mice**

Rahmatollah Parandin<sup>1\*</sup>, Namdar Yousofvand<sup>2</sup>

1. Assistant Professor, PhD of Animal physiology, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

2. Assistant Professor, PhD of physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran.

Received: 25 Sep 2017, Accepted: 7 Jan 2018

---

### **Abstract**

**Background:** Several studies have shown that developmental exposure to phytoestrogens causes adverse effects on the reproductive functions. Fennel as a phytoestrogen plant has a rich history in household use and traditional medicine. So, the current study was designed to investigate the effects of in utero and neonatal exposure with fennel on the puberty onset, estrus cycle, reproductive organs and sexual behavior of their offspring.

**Materials and Methods:** BALB/c mice were injected intraperitoneally with 0 (control), 100, 200 and 400 (mg/kg bw) aqueous fennel seed extract (AFSE), daily from day 7 of gestation to postnatal day (PND) 7.

**Results:** Vaginal opening (sign of puberty onset) was advanced in 200 ( $p < 0.01$ ) and 400 AFSE ( $p < 0.001$ ) treated females. A 30 days vaginal smear check indicated that 200 or 400 AFSE treated mice showed a prolonged estrus with decreased proestrus, estrus and metestrus stages and increased and diestrus stage and index. The ovary weight, number of corpora lutea and LH concentration decreased and uterus weight and estradiol concentration increased in the 200 or 400 treated mice in PND 70. 400 AFSE ( $p < 0.01$ ) treated females showed lordosis with a low lordosis quotient (LQ) when compared to the control group.

**Conclusion:** These results suggest that developmental exposure to AFSE, due to its estrogenic compounds, it may cause the precocious puberty, disrupted estrus cycle, altered weight of reproductive organs, hormonal imbalance and low lordosis behavior.

**Keywords:** Fennel, Mice, Puberty, Reproductive function

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Email: rahmatparandin@pnu.ac.ir

## اثرات عصاره آبی بذر رازیانه در دوره حاملگی و شیردهی بر بلوغ جنسی، چرخه فحلی و رفتار جنسی موش‌های سوری ماده

رحمت اله پرنندین<sup>۱\*</sup>، نامدار یوسف وند<sup>۲</sup>

۱. استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۳، تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۷

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعات نشان داده‌اند که مواجهه تکوینی با فیتواستروژن‌ها، اثرات مضر بر عملکرد تولیدمثلی دارد. رازیانه به عنوان گیاهی فیتواستروژن، تاریخچه غنی در مصارف خانگی و پزشکی سنتی دارد. از این رو، هدف از مطالعه حاضر، بررسی مواجهه جنینی و نوزادی موش‌های ماده با رازیانه و اثرات آن بر زمان‌بندی بلوغ، چرخه فحلی، اندام‌های تولیدمثلی و رفتار جنسی فرزندان آن‌ها بود.

**مواد و روش‌ها:** موش‌های ماده نژاد بلب سی به صورت درون صفاقی با صفر (کنترل)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی رازیانه از روز ۷ حاملگی تا ۷ روز پس از تولد نوزادان تیمار شدند.

**یافته‌ها:** باز شدن واژن (نشانه آغاز بلوغ) در موش‌های با دوز ۲۰۰ ( $p < 0/01$ ) و ۴۰۰ رازیانه ( $p < 0/01$ ) در مقایسه با گروه کنترل سریع‌تر اتفاق افتاد. بررسی اسمیر واژن ۳۰ روزه نشان داد که موش‌های تیمار شده با دوز ۲۰۰ یا ۴۰۰ رازیانه یک چرخه طولانی مدت با کاهش در مراحل پرواستروس، استروس و مت استروس و افزایش مدت و شاخص دی استروس را نشان دادند. وزن تخمدان، تعداد جسم زرد و هورمون LH با کاهش و وزن رحم و غلظت استرادیول با افزایش در موش‌های ۷۰ روزه تیمار با دوز ۲۰۰ یا ۴۰۰ رازیانه همراه شد. موش‌های با دوز ۴۰۰ رازیانه ( $p < 0/01$ )، به طور معنی داری کاهش رفتار لوردوز را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهند که مواجهه تکوینی با عصاره آبی رازیانه به دلیل داشتن ترکیبات استروژنیک ممکن است موجب بلوغ زودرس، اختلال چرخه فحلی، تغییر وزن اندام‌های تولیدمثلی، عدم تعادل هورمونی و کاهش رفتار جنسی گردد.

**واژگان کلیدی:** رازیانه، بلوغ، عملکرد تولیدمثلی، موش.

\*نویسنده مسئول: ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی

Email: rahmatparandin@pnu.ac.ir

## مقدمه

که با اتصال به استرادیول مانع از عبور استرادیول از سدخونی مغزی و ورود آن به مغز می گردد، یک دوره بحرانی به منظور تکوین مناسب اندامها و شبکه های عصبی حساس به استروژن کنترل کننده محور تولیدمثل می گردد. در واقع این دوره های بحرانی هورمونی، مورفوژنز و تمایز اندامها و بافت های غلظت اندک استروژن بستگی دارند (۱، ۳). قابل توجه است که فیتواستروژن ها همانند سایر مداخله گر اندوکروینی استروژنیک قادر به اتصال با آلفا فئوپروتئین ها نیستند و در نتیجه می توانند از سدخونی مغزی عبور نمایند و در دسترس سلول های مغزی قرار گیرند (۱). مواجهه در دوران تکوینی جنینی و نوزادی با فیتواستروژن ها و اثرات بعدی آن ها بر فیزیولوژی و رفتار تولیدمثلی توجه بیشتری پیدا کرده است. مدل های چوندگان نشان داده اند که فیتواستروژن ها می توانند از مادر به جنین و از شیر مادر به نوزاد منتقل شوند و بنابراین فیتواستروژن ها می توانند بر بلوغ و فیزیولوژی تولیدمثل تاثیر بگذارند (۴، ۵). مواجهه در دوره تکوین با فیتواستروژن هایی از جمله جنیستین (۶) و کامسترول (۷)، رسوراتول (۵) یا مایکواستروژن زیرالنون (۸) منجر به اثرات سوئی بر فیزیولوژی تولیدمثلی چوندگان ماده شده است.

رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare* گیاهی علفی و پایا از خانواده چتریان (*Apiaceae*) یا *Umbelliferae* می باشد و از زمان باستان تاکنون مورد مصرف انسان قرار گرفته است. رازیانه به عنوان یک ترکیب استروژنیک شناخته شده و در طب سنتی در بسیاری از اختلالات گوارشی، اندوکراین، تولیدمثلی و قاعدگی کاربرد دارد. هم چنین رازیانه به عنوان یک عامل افزایش دهنده شیر برای مادران شیرده توصیه شده است. هم اکنون رازیانه و داروها و ترکیبات حاصل از آن دارای پتانسیل بالایی در زمینه فارماکولوژی از جمله داشتن فعالیت آنتی باکتری، آنتی قارچ، آنتی اکسیدانت، آنتی ترومبوتیک، آنتی دیابت، حفظ سلول، ضد تومور و ... گزارش شده اند (۹-۱۱). مهم ترین و فراوان ترین ترکیب شیمیایی موجود در رازیانه ماده ای بنام *trans-*

فیتواستروژن ها ترکیبات گیاهی پلی فنولی غیراستروئیدی هستند که از لحاظ ساختار شیمیایی به هورمون استرادیول پستانداران شباهت داشته و بنابراین دارای فعالیت زیستی شبه استروژنی می باشند. به همین دلیل این ترکیبات قادر به واکنش با گیرنده های استروژن و به دنبال آن راه اندازی یا مهار پاسخ های استروژنیک می باشند. بسیاری از فیتواستروژن ها به صورت روزانه توسط مردم یا حیوانات خورده می شوند. اگرچه بسیاری از مطالعات پیشنهاد کرده اند که فیتواستروژن ها دارای اثرات مفیدی بر سلامتی انسان و حیوانات هستند، برخی مطالعات نیز نشان داده اند که فیتواستروژن ها می توانند به عنوان ترکیبات مداخله گر اندوکروینی شبه استروژنیک عمل کرده و آثار زیانباری بر بدن داشته باشند. فیتواستروژن ها نخستین بار در دهه ۱۹۴۰ میلادی با شیوع ناباروری در بین گوسفندانی که از مزارع شبدر قرمز (یک گیاه غنی از فیتواستروژن) در استرالیا چرا می کردند شناسایی شدند (۱). مداخله گرهای اندوکروینی استروژنیک، ترکیبات برونزادی هستند که پس از ورود به بدن موجب تغییر عملکرد دستگاه های درون ریز شده و به دنبال آن موجب بروز اختلالات مختلفی در نتیجه تداخل با تولید، متابولیسم یا پاسخ های سلولی گیرنده های استروژن می شوند. تاکنون بزرگ ترین نگرانی ها در مورد اثرات سوء مداخله گرهای اندوکروینی استروژنیک از جمله فیتواستروژن ها بر آثار زیانبار آن ها بر سلامتی تولیدمثل متمرکز شده است (۱، ۲). مطالعات در طی چند دهه گذشته نشان داده اند که نگرانی در مورد سمیت تولیدمثلی در نتیجه مصرف فیتواستروژن های خوراکی افزایش یافته است. تحقیقات در مورد فیتواستروژن ها نشان داده که اثرات فیتواستروژن ها بر تکوین و عملکرد دستگاه تولیدمثلی به سن و مدت زمان مواجهه با این ترکیبات بستگی دارد (۱). در چوندگان ماده سطوح استرادیول در دوره نوزادی و جنینی به علت وجود تخمدان های غیرفعال و همین طور وجود آلفا فئو-پروتئین سرم

تغلیظ شده و عصاره حاصل جهت تزریق مورد استفاده قرار گرفت (۱۳).

حیوانات، گروه بندی و تجویز عصاره

در این تحقیق از تعداد ۲۵ سر موش سوری آبستن نژاد BALB/c که از موسسه رازی (کرج، ایران) تهیه شده بودند استفاده شد. موش ها در قفس های پلاستیکی استاندارد در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی، رطوبت ۵ ± ۵۰ درصد و دمای ۱±۲۱ درجه سانتی گراد با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. موش های حامله به طور تصادفی به ۵ گروه شامل کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (آب مقطر) و سه گروه تجربی دریافت کننده عصاره آبی رازیانه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. کلیه تجویزها از روز ۷ آبستنی تا ۷ روز پس از تولد نوزادان به صورت داخل صفاقی به موش های مادر انجام شد. پس از زایمان، همه زاده ها جهت بررسی سلامتی حیوانات روزانه وزن شدند. زاده ها در روز ۲۱ پس از تولد از شیر مادر محروم شدند و سپس از هر مادر ۲ یا ۳ فرزند با جنس ماده به طور تصادفی انتخاب گردید. در مجموع، تعداد ۵۵ زاده جنس ماده جهت بررسی های بعدی در دو مجموعه قرار گرفتند. در مجموع اول در هر زیرگروه تعداد ۶ تا ۷ سر موش مطابق با گروه بندی مادر قرار گرفته و جهت بررسی آغاز بلوغ، چرخه استروس، وزن اندام های تولیدمثلی و شمارش جسم زرد تخمدان مورد استفاده قرار گرفتند. در مجموعه دوم نیز مطابق با گروه بندی مادر در هر زیرگروه تعداد ۶ تا ۷ موش از موش های ماده باقی مانده قرار گرفته و تا روز ۸۰ پس از تولد جهت بررسی رفتار جنسی (لوردوز) نگهداری شدند (۷).

بررسی آغاز بلوغ و چرخه فعلی

از روز ۲۴ پس از تولد، موش ها به صورت روزانه جهت بررسی بازشدن واژن از طریق مشاهده چشمی ایجاد شکاف طولی در واژن مطالعه شدند. در جوندگان آغاز بلوغ جنسی توسط بازشدن واژن به عنوان یک نشانه بیرونی مناسب فعال شدن محور HPG تعیین می گردد که در حدود ۴ تا ۵

می باشد که به عنوان یک عامل فعال استروژنیک معرفی شده است. سایر ترکیبات آروماتیک موجود در رازیانه از قبیل *estragole*، *photoanethole*، *dianethole* و *Fenchone* به عنوان مولکول های فعال زیستی با قابلیت استروژنیک نشان شده اند (۱۱، ۱۰). در مطالعه ای مصرف چای رازیانه به عنوان عامل تزارک زودرس (رشد و تکامل پیش از موعد پستانها) در دختران معرفی گردید (۱۲). در مطالعه دیگری، استفاده از عصاره آبی بذر رازیانه در دوران بارداری موجب اثرات تراتوژنیک در جنین موش های سوری گردید (۱۳). به علاوه نشان داده اند که مصرف رازیانه به دلیل داشتن ترکیبات استروژنیک *trans-anethole* و *P-anisaldehyde* ممکن است منجر به بروز سرطان پستان گردد (۱۴).

با وجود گزارش های فراوان در مورد مزایای مصرف رازیانه در انسان و حیوانات آزمایشگاهی (۱۲-۱۰)، در حال حاضر اطلاعاتی در مورد اثرات استروژنیک رازیانه بر تکوین و عملکرد دستگاه تولیدمثل به دنبال مواجهه جنینی و نوزادی وجود ندارد. بنابراین مطالعه حاضر بر تیمار جنینی و نوزادی رازیانه و اثرات آن بر زمان آغاز بلوغ جنسی، چرخه فعلی، وزن اندام های جنسی، تولید جسم زرد و رفتار جنسی در موش های بالغ متمرکز گردید.

## مواد و روش ها

### عصاره گیری

دانه رازیانه پس از خریداری از کرمانشاه و تایید گیاه شناس (کد هرباریومی: ۱۳۹۵/۱۱) شسته شده و خشک گردید. سپس با استفاده از آسیاب برقی خرد شده و به صورت پودر درآمد. به منظور عصاره گیری، ۱ گرم پودر رازیانه در ۷۰ سی سی آب مقطر حل گردید که پس از حرارت و رسیدن به دمای جوش به حجم ۵۰ سی سی کاهش یافت. در ادامه محلول باقی مانده در سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با ۷۰۰۰ دور قرار گرفت و پس از آن با استفاده از کاغذ صافی

پارافین قالب گیری شده و برش گیری ۷ میکرومتری سریالی انجام شد و سپس توسط هماتوکسیلین انوزین رنگ آمیزی انجام شد. سپس به منظور شمارش اجسام زرد و با توجه به اندازه بزرگ اجسام زرد و جهت جلوگیری از تکرار در شمارش، اولین، بیستم، چهلمین، شصتمین و ... تا آخرین برش انتخاب شده و اجسام زرد موجود شمارش شدند (۸).

#### ارزیابی هورمونی

سنجش سطوح هورمون‌های استرادیول و لوتئینی (LH) با روش سنجش ایمنی رادیواکتیو (R.I.A) توسط دستگاه گاما کانتر مطابق با پروتوکول کیت های مربوطه (رادیم، ایتالیا) انجام گرفت.

#### بررسی رفتار جنسی

تعداد ۵ موش ماده ۸۰ روزه در هر گروه برای این رفتار به طور تصادفی انتخاب شدند. فاکتور لوردوز (LQ) در آکواریوم شیشه ای به ابعاد ۴۰ سانتی متر طول، ۳۰ سانتی متر ارتفاع و ۲۵ سانتی متر عرض که کف آن با خاک اره پوشیده شده بود بررسی شد. در ابتدای هر تست، یک موش نر هم نژاد با موش های ماده که قابلیت باروری آن قبلا به اثبات رسیده بود به تنهایی در کنار یک موش ماده قرار می گرفت. در ادامه پاسخ های لوردوز موش ماده نسبت به تعداد مونت (سوار شدن موش نر بر موش ماده) موش نر ثبت گردید. تست تا زمان انجام ۱۰ مونت به طول انجامید. تست برای مدت ۳ روز متوالی در ساعت ۹ شب انجام شد و میانگین ثبت گردید و در نهایت LQ با استفاده از فرمول زیر به دست آمد (۷):

$$\text{LQ} = \frac{\text{تعداد پاسخ لوردوز موش ماده}}{\text{تعداد مونت موش نر}} \times 100$$

#### تحلیل آماری

تحلیل داده ها با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار و سطح معنی دار در محدوده اطمینان ۹۵ درصد بیان گردید.

هفته پس از تولد در موش های آزمایشگاهی مشاهده می شود. جهت بررسی چرخه فعلی، اولین استروس در موش ها با مشاهده سلول های شاخی شده در حدود ۲ تا ۱۰ روز پس از مشاهده باز شدن واژن اتفاق می افتد. چرخه فعلی به صورت روزانه بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح با مشاهده اسمیر واژن تا ۳۰ روز پس از اولین مشاهده سلول های شاخی شده بررسی شد. به طور خلاصه، اسمیرهای واژن از موش های ماده با استفاده از سواب آغشته با محلول ۰/۹ NaCl به دست آمد و بر روی لام شیشه ای تمیز گسترش تهیه شد و با رنگ متیلن بلو (سیگما) ۱ درصد رنگ آمیزی شد و سپس با کمک میکروسکوپ نوری (Olympus Bx51، ژاپن) مشاهده انجام شد. چرخه فعلی کامل در موش ها ظرف مدت ۴ تا ۵ روز اتفاق افتاده و به ۴ مرحله به صورت زیر تقسیم می شود: (۱) مرحله پرواستروس که طی آن سلول های پوششی هسته دار غالب هستند؛ (۲) مرحله استروس که این مرحله با حضور سلول های پوششی شاخی شده بدون هسته مشخص می شود؛ (۳) مرحله مت استروس که در این مرحله مخلوطی از انواع سلول ها شامل لوکوسیت ها، سلول های پوششی هسته دار و سلول های پوششی شاخی شده مشاهده می گردد و (۴) مرحله دی استروس که در این مرحله لوکوسیت ها غالب هستند (۸، ۱۵، ۱۶).

هم چنین شاخص دی استروس (Diestrus)

به صورت زیر محاسبه و ثبت شد (۱۶):

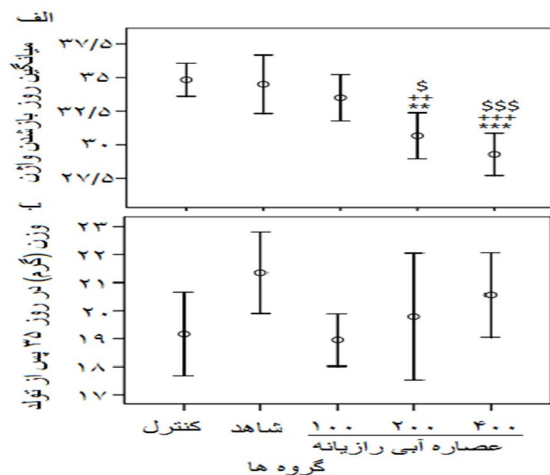
$$\text{index} = \frac{\text{تعداد روزهای با اسمیر دی استروس}}{\text{تعداد کل روزهای بررسی اسمیر واژن}} \times 100$$

وزن تخمدان و رحم و شمارش جسم زرد تخمدان در حدود روز ۷۰ پس از تولد موش ها در مرحله دی استروس با کتامین و زایلازین عمیقاً بی هوش شده و سپس شکم حیوانات را باز کرده و پس از جمع آوری خون از قلب، اندام های تولیدمثلی شامل تخمدان ها و رحم خارج شده و توزین شدند. تخمدان ها پس از آنگیری در اتانول، در

## یافته‌ها

## یافته‌های آغاز بلوغ

میانگین روز باز شدن واژن در گروه‌های شاهد و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه به ترتیب ۳۴/۵ و ۳۳/۵ روز پس از تولد بود که تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل که ۳۴/۸۳ روز پس از تولد بود نداشت. این مقدار در گروه‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه به ترتیب ۳۰/۶۷ و ۲۹/۲۸ روز پس از تولد بود که به طور معنی‌داری نشان دهنده بلوغ زودرس در گروه‌های ۲۰۰ ( $p < 0/01$ ) و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/001$ ) در مقایسه با هر دو گروه کنترل و شاهد بود. همین‌طور باز شدن واژن در گروه‌های ۲۰۰ ( $p < 0/05$ ) و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/001$ ) در مقایسه با گروه ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه به طور معنی‌داری زودتر اتفاق افتاد (شکل ۱-الف). میانگین وزن بدن در حدود سن آغاز بلوغ (۳۵ روزگی) در موش‌های گروه‌های کنترل، شاهد، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ به ترتیب ۱۹/۱۷، ۲۱/۳۵، ۱۸/۹۵، ۱۹/۷۸ و ۲۰/۵۵ گرم بود که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (شکل ۱-ب).



شکل ۱. تأثیر تجویز عصاره آبی بذر رازیانه در دوره حاملگی و شیردهی بر روز باز شدن واژن (آغاز سن بلوغ) (الف) و وزن بدن در سن بلوغ (ب) در موش‌های سوری ماده. \*نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل، +با گروه شاهد و \$با گروه دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی بذر رازیانه می‌باشد. \$ نشان دهنده احتمال ( $p < 0/05$ ), \*\* و ++ نشان دهنده احتمال ( $p < 0/01$ ) و \*\*\* و +++ و SSS نشان دهنده احتمال

( $p < 0/001$ ) می‌باشد. تعداد موش‌ها در هر گروه ۶ تا ۷ سر بود و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

## یافته‌های چرخه فحلی

بررسی تعداد چرخه‌های فحلی برای مدت ۳۰ روز در موش‌ها نشان داد که تعداد این چرخه‌ها به طور معنی‌داری در گروه‌های ۲۰۰ ( $p < 0/05$ ) و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/01$ ) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل داشته است. به علاوه گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه کاهش معنی‌داری در تعداد چرخه‌های فحلی در مقایسه با گروه‌های شاهد ( $p < 0/01$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/01$ ) نشان داد. بررسی مرحله پرواستروس در طی این مدت نشان داد که طول این مرحله به طور معنی‌داری در گروه‌های ۲۰۰ ( $p < 0/01$ ) و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/01$ ) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های کنترل و شاهد داشته است. همین‌طور، طول این مرحله به طور معنی‌داری در گروه‌های ۲۰۰ ( $p < 0/05$ ) و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/01$ ) کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه نشان داد. طول مدت مرحله استروس در گروه ۲۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/05$ ) در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد و طول این مرحله در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0/05$ )، شاهد ( $p < 0/01$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/05$ ) نشان داد. طول مدت مرحله مت استروس در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0/05$ )، شاهد ( $p < 0/01$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0/05$ ) نشان داد. هم‌چنین طول مدت مرحله دی استروس و شاخص دی استروس در گروه ۲۰۰ عصاره آبی رازیانه افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0/05$ ) و شاهد ( $p < 0/01$ ) و در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه‌های

کنترل ( $p < 0.01$ )، شاهد ( $p < 0.001$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0.01$ ) نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱. تأثیر تجویز عصاره آبی بذر رازیانه در دوره حاملگی و شیردهی بر شاخص‌های چرخه فحلی در موش‌های سوری.

گروه‌ها	تعداد چرخه‌های فحلی	مدت زمان مراحل چرخه فحلی (روز)			شاخص دی استروس	
		پرواستروس	استروس	مت استروس		
کنترل	۵/۶۷±۰/۲۱	۶/۱۷±۰/۱۷	۷/۸۳±۰/۳۱	۵/۵۰±۰/۲۲	۱۰/۵۰±۰/۶۲	۳۵/۰۰±۲/۰۶
شاهد	۵/۵۰±۰/۵۵	۶/۳۳±۰/۲۱	۸/۱۷±۰/۱۷	۵/۸۳±۰/۱۷	۹/۶۷±۰/۴۲	۳۲/۲۲±۱/۴۰
رازیانه ۱۰۰	۵/۵۰±۰/۵۵	۶/۰۰±۰/۳۶	۷/۶۷±۰/۲۱	۵/۳۳±۰/۳۳	۱۱/۰۰±۰/۸۶	۳۶/۶۷±۲/۸۵
رازیانه ۲۰۰	*۴/۳۳±۱/۰۳	**+, \$۴/۱۷±۰/۷۰	+۶/۳۳±۰/۶۱	۴/۸۳±۰/۳۱	*+, \$۱۴/۶۷±۱/۴۵	*+, \$۴۸/۹۰±۴/۸۴
رازیانه ۴۰۰	*+, \$۴/۱۴±۰/۶۹	**+, \$۴/۰۰±۰/۳۱	۶/۱۴±۰/۳۴	**+, \$۴/۱۴±۰/۲۶	**+, \$۱۵/۷۱±۰/۷۸	۵۲/۳۸±۲/۵۹
	\$		*+, \$			**+, \$

\* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه کنترل، + با گروه شاهد و \$ با گروه دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره آبی بذر رازیانه می باشد. \*، + و \$ نشان دهنده احتمال  $(p < 0.05)$ ، \*\*، ++، \$\$\$ نشان دهنده احتمال  $(p < 0.01)$  و \*\*، +++ و \$\$\$\$ نشان دهنده احتمال  $(p < 0.001)$  می باشد. تعداد موش‌ها در هر گروه ۶ تا ۷ سر بود و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند.

۱۰۰ ( $p < 0.01$ ) و در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.001$ )، شاهد ( $p < 0.001$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0.001$ ) کاهش نشان دادند. تعداد جسم زرد نخمدان در گروه‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه کاهش معنی دار را در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.001$ )، شاهد ( $p < 0.001$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0.001$ ) نشان دادند (جدول ۲).

#### یافته‌های تخمدان و رحم

وزن رحم نسبت به وزن بدن در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه به طور معنی داری در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.01$ )، شاهد ( $p < 0.05$ )، ۱۰۰ ( $p < 0.01$ ) و ۲۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0.001$ ) کاهش یافت. وزن تخمدان نسبت به وزن بدن به طور معنی داری در گروه ۲۰۰ عصاره آبی رازیانه در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.01$ )، شاهد ( $p < 0.01$ ) و

جدول ۲. تأثیر تجویز عصاره آبی بذر رازیانه در دوره حاملگی و شیردهی بر وزن رحم، تخمدان و تعداد جسم زرد موش‌های سوری ۷۰ روزه.

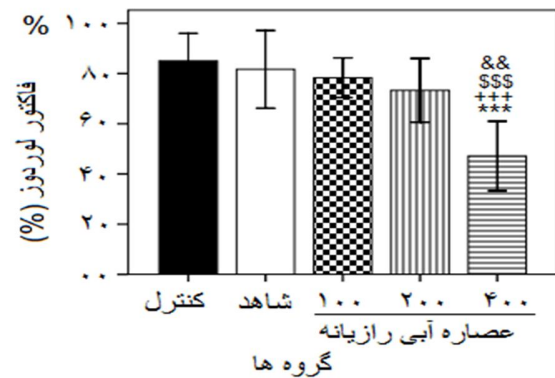
گروه‌ها	وزن تخمدان		تعداد جسم زرد
	میلی گرم/۱۰۰ گرم وزن بدن	میلی گرم/۱۰۰ گرم وزن بدن	
کنترل	۴۴۷/۶۲±۵/۰۷	۸۵/۷۳±۱/۶۴	۴۷/۰۰±۱/۷۹
شاهد	۴۵۳/۳۵±۴/۱۵	۸۷/۵۳±۱/۵۰	۴۵/۶۷±۱/۴۵
رازیانه ۱۰۰	۴۴۴/۵۷±۶/۸۴	۸۶/۳۲±۱/۵۵	۴۵/۰۰±۱/۸۱
رازیانه ۲۰۰	۴۳۶/۹۵±۸/۰۸	**+, \$۷۷/۳۲±۱/۲۵	***+, \$\$\$\$۳۱/۶۷±۱/۵۲
رازیانه ۴۰۰	**+, \$, \$\$\$, \$\$\$۴۸۴/۰۷±۶/۷۹	***+, \$\$\$\$۷۴/۲۶±۲/۲۰	***+, \$\$\$\$۳۰/۸۵±۲/۹۱

\* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه کنترل، + با گروه شاهد، \$ با گروه دوز ۱۰۰ و & با گروه دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی بذر رازیانه می باشد. + نشان دهنده احتمال  $(p < 0.05)$ ، \*\*، ++، \$\$\$ نشان دهنده احتمال  $(p < 0.01)$  و \*\*، +++ و \$\$\$\$ نشان دهنده احتمال  $(p < 0.001)$  می باشد. تعداد موش‌ها در هر گروه ۶ تا ۷ سر بود و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند.

#### یافته‌های هورمون سنجی

داری در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.05$ )، شاهد ( $p < 0.01$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0.05$ ) افزایش یافت. غلظت هورمون LH به طور معنی داری در گروه ۲۰۰

همان‌طور در شکل ۲ مشاهده می شود، غلظت استرادیول در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه به طور معنی

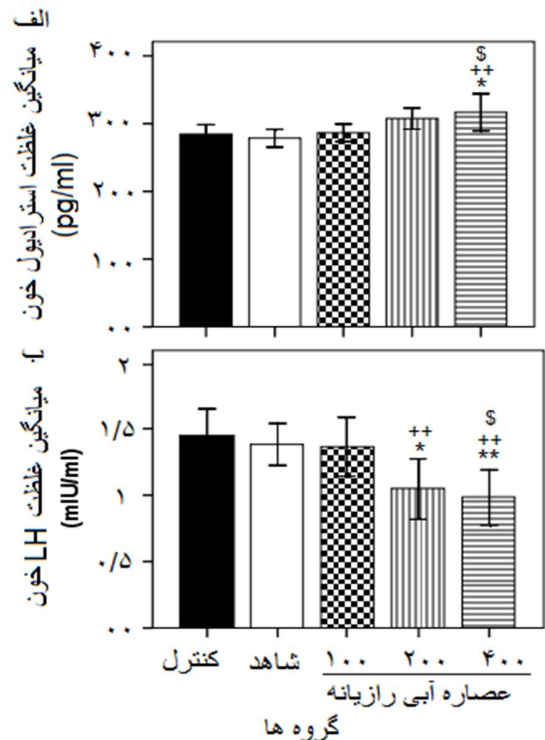


شکل ۳. تأثیر تجویز عصاره آبی بذر رازیانه در دوره حاملگی و شیردهی بر فاکتور لوردوز در موش‌های سوری ماده. \* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه کنترل، + با گروه شاهد، \$ با گروه دوز ۱۰۰ و & با گروه دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی بذر رازیانه می‌باشد. && نشان دهنده احتمال ( $p < 0.01$ ) و \*\*\* و ++ نشان دهنده احتمال ( $p < 0.001$ ) می‌باشد. تعداد موش‌ها در هر گروه ۶ تا ۷ سر بود و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

### بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمار جنینی و نوزادی عصاره آبی رازیانه به ویژه با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن منجر به بلوغ زودرس، اختلال در چرخه فحلی، اختلال در وزن اندام‌های جنسی، کاهش تعداد جسم زرد تخمدان، اختلال در سطح هورمون‌های جنسی استرادیول و LH و کاهش رفتار جنسی در موش‌های بالغ می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهند که تجویز نوزادی عصاره آبی رازیانه ممکن است باعث مادینه‌زدایی هسته‌ها و شبکه‌های هیپوتالاموسی کنترل‌کننده محور تولیدمثلی جنس ماده گردد. تمایز جنسی مغز توسط هورمون‌های جنسی درون‌زاد تعیین می‌گردد، چرا که هورمون‌های جنسی تنظیم‌کنندگان مهم شبکه‌های نورواندوکرینی کنترل‌کننده آغاز بلوغ و کنترل محور تولیدمثلی هستند. بر همین اساس، این وقایع نسبت به ترکیبات مداخله‌گر برون‌زاد شبه هورمون‌های استروئیدی حساس و آسیب‌پذیر هستند. مشخص شده که فرآیند تمایز جنسی مغز در جوندگان طی دوره‌های بحرانی

عصاره آبی رازیانه در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.05$ ) و شاهد ( $p < 0.01$ ) و در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.01$ )، شاهد ( $p < 0.01$ ) و ۱۰۰ عصاره آبی رازیانه ( $p < 0.05$ ) کاهش یافت.



شکل ۲. تأثیر تجویز عصاره آبی بذر رازیانه در دوره حاملگی و شیردهی بر میانگین غلظت هورمون‌های استرادیول (الف) و LH (ب) در موش‌های سوری ماده ۷۰ روزه. \* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار با گروه کنترل، + با گروه شاهد و \$ با گروه دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی بذر رازیانه می‌باشد. \* و \$ نشان دهنده احتمال ( $p < 0.05$ ) و \*\* و ++ نشان دهنده احتمال ( $p < 0.01$ ) می‌باشد. تعداد موش‌ها در هر گروه ۶ تا ۷ سر بود و داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

### یافته‌های رفتار لوردوز

همان‌طور در شکل ۳ مشاهده می‌شود، درصد رفتار لوردوز در گروه ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های کنترل ( $p < 0.001$ )، شاهد ( $p < 0.001$ )، ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره آبی رازیانه کاهش یافت.



هورمونی و تکوینی به ویژه دوران آخر جنینی و بلافاصله پس از تولد اتفاق می افتد. طی این دوران بحرانی، شبکه‌های عصبی کلیدی هیپوتالاموس در مسیر مغز جنس نر یا ماده تمایز پیدا می کنند. یافته های حاصل از بررسی جوندگان در این دوران نشان داده که علامت مولکولی اصلی در جهت تمایز مغز جنس ماده سطح کم استرادیول در خون به علت وجود تخمدان های خاموش و وجود ماده ای به نام آلفا پروتئین در خون می باشد که با اتصال به استرادیول از ورود آن از سد خونی مغزی جلوگیری می کند و مغز در جهت جنس ماده تکامل پیدا می کند. بنابراین این احتمال وجود دارد که ترکیبات برونزاد شبه استروئیدی ممکن است با ورود به بدن در دوره های بحرانی تکوینی و هورمونی بر تمایز جنسیتی مغز و تشکیل مدارهای عصبی کنترل کننده محور تولیدمثل اثرات سوئی را اعمال کنند (۲). مواجهه بدن با ترکیبات مداخله گر اندوکروینی با ویژگی های شبه استروئیدی از جمله فیتواستروژن ها نشان داده که آن ها توانایی اتصال با آلفا فتوپروتئین را ندارند و بنابراین قابلیت عبور از سد خونی مغزی را دارا بوده و قادر به تغییر تکوین طبیعی مغز می باشند (۱).

تجویز نوزادی عصاره آبی رازیانه منجر به بازشدن زودتر از موعد واژن و در نتیجه بلوغ زودرس در موش ها شد. برخی مطالعات نشان داده اند که افزایش وزن و چاقی به علت افزایش توده چربی بدن ممکن است منجر به بلوغ زودرس در دختران یا جوندگان ماده گردد (۱۸، ۱۹). ولی در موش های مطالعه حاضر در حدود سن بلوغ (روز ۳۵ پس از تولد) تغییرات معنی داری در وزن بدن بین گروه های تحت درمان با گروه کنترل مشاهده نگردید. بنابراین ارتباطی بین وزن بدن و بلوغ زودرس در مطالعه حاضر استنباط نمی شود. موش های گروه کنترل و شاهد چرخه های فحلی ۴ تا ۵ روزه طبیعی را نشان دادند، در صورتی که موش های تحت درمان با عصاره آبی رازیانه (بویژه با دوز بالاتر) چرخه های فحلی طولانی شده (با کاهش مدت مراحل پرواستروس، استروس و مت

استروس و افزایش مدت و شاخص دی استروس) و در مجموع تعداد چرخه های کمتری را نشان دادند. این نتایج در توافق با مطالعات قبلی با تجویز فیتواستروژن های جنیستین (۶)، کامسترول (۷)، میکواستروژن زیرالنون (۸) و ترکیبات شیمیایی صنعتی از جمله بیسفنول آ (۲۰) می باشد. باز شدن واژن در جوندگان یک واقعه وابسته به آپوپتوز می باشد و به عنوان یک شاخص مناسب برای بررسی آغاز بلوغ استفاده می شود. مطالعات نشان داده که این واقعه ممکن است به علت افزایش ترشح استرادیول و فعال شدن کلیه سطوح محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و تخمدان اتفاق بیفتد که تا قبل از بلوغ خاموش می باشند (۱۶). بررسی در جوندگان نشان داده که تجویز استروژن یا ترکیبات برونزاد استروژنیک (۸-۶) به علاوه تغییرات حداقل در سطوح هورمون های جنسی طی دوره های بحرانی از رشد می تواند رشد و تکوین اندام های تولیدمثلی را تسریع بخشد (۲۱). در انسان نیز بیان شده که استفاده از چای رازیانه ممکن است باعث ظهور علائم بلوغ زودرس از جمله رشد و تکامل پیش از موعد پستان ها گردد که موید مطالعه حاضر در بلوغ زودرس می باشد (۱۲).

در جوندگان، جمعیت های نورونی حساس به استروژن از جمله نورون های کیس پتین موجود در هسته های هیپوتالاموسی پیش بطنی جلویی - شکمی و قوسی که در کنترل عملکرد محور تولیدمثل از جمله زمان آغاز بلوغ و تنظیم چرخه فحلی نقش دارند، گیرنده های استروژن را بیان کرده و به شدت نسبت به تغییرات سطوح استروژن در دوره های بحرانی هورمونی حساسیت دارند. مطالعات قبلی نشان داده اند که آسیب به این هسته ها و نورون های موجود در آن ها عملکرد تولیدمثل را در جوندگان ماده مختل می کند (۸، ۲۲-۲۴). بررسی ها نشان داده که این هسته ها به صورت دیمورفیک جنسی می باشند. آزمایش ها نشان داده اند که بروز این تفاوت های جنسی به سطوح پایین استرادیول در دوره های بحرانی از جمله نوزادی در جوندگان و اواخر جنینی در انسان بستگی دارد، زیرا تجویز استروژن یا فیتواستروژن ها در موش

کنونی در توافق با مطالعات قبلی با فیتواستروژن‌های دیگر از جمله جنیستین و کامسترول می‌باشد (۶، ۷). بنابراین ترکیبات استروژنیک موجود در رازیانه ممکن است طی دوره های حساس هورمونی از تشکیل صحیح مدارهای نورونی کنترل کننده رفتار جنسی ممانعت به عمل آورد.

اگرچه ترکیبات طبیعی و مصنوعی در محیط فراوان هستند، ولی اطلاعات کمی در مورد خطرات بالقوه مواجهه انسان با ترکیبات استروژنیک برون‌زاد وجود دارد. در نتیجه، توجه و تمرکز بر فیتواستروژن‌های موجود در خوراکی‌های گیاهی به دلیل وجود گروه هیدروکسیل آن‌ها (به علت شباهت با هورمون استرادیول و اشغال گیرنده‌های استروژن) و داشتن خواص ضعیف استروژنی در ارزیابی‌های مختلف اهمیت فراوانی دارد (۳۰-۲۸). با این وجود، پژوهش‌های آینده بر شناسایی مکانیسم رازیانه و ترکیبات موثر آن به‌ویژه ترانس-آنتول در این مورد ضروری می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

به طور کلی، مشاهدات مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که تغییرات در فیزیولوژی بلوغ و تولیدمثل موش‌های تیمار شده در دوران حاملگی و نوزادی با عصاره آبی رازیانه ممکن است به عنوان یک ترکیب با داشتن فعالیت استروژنیک، به طور دائمی بر هسته‌های هیپوتالاموسی حساس به استروژن کنترل کننده محور تولیدمثل عمل کرده و باعث بلوغ زودرس و اختلال در عملکرد تولیدمثل گردد. بنابراین توصیه می‌شود که زنان باردار و شیرده تا حد امکان از مصرف بیش از حد رازیانه جهت جلوگیری از اثرات جانبی آن بر توانایی تولیدمثلی فرزندان خود خودداری نمایند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه پیام نور می‌باشد و با حمایت مالی و ابلاغیه اعتبار پژوهانه آن

های نوزاد در بلوغ باعث کاهش ترشح هورمون LH، کاهش تخمک‌گذاری و کاهش جسم زرد می‌گردد (۵، ۲۵) که با توجه به کاهش سطح LH و تعداد جسم زرد در مطالعه حاضر همخوانی دارد. ممکن است که طی دوره های بحرانی از تکوین، ترکیبات استروژنیک موجود در رازیانه از جمله *trans-anethole* و *P-anisaldehyde* با اتصال به گیرنده های استروژن منجر به تغییرات در تشکیل و تکوین مدارهای عصبی حساس به استروژن کنترل کننده محور تولیدمثل گردد. در نتیجه منجر به کاهش در تخمک‌زایی و به دنبال آن کاهش تشکیل جسم زرد شده و سپس عدم حساسیت در ترشح استرادیول گردد. در مطالعه حاضر، در موش‌های تحت تیمار با عصاره آبی رازیانه وزن تخمدان کاهش و وزن رحم افزایش یافت. این یافته‌ها ممکن است به علت عدم تعادل هورمونی در مطالعه حاضر باشد. شواهد نشان داده اند که وزن تخمدان و تعداد جسم زرد به سطح گنادوتروپین‌ها به ویژه هورمون LH و متابولیسم، وزن و رشد رحم به هورمون استرادیول بستگی دارد (۲۶، ۲۷) که با توجه به افزایش استرادیول و کاهش LH در مطالعه حاضر همخوانی دارد. مشاهدات مشابه در جوندگان تیمار شده با ترکیبات فیتواستروژنیک مشاهده شده است (۸-۶، ۲۰).

نتایج مطالعه کنونی نشان دهنده کاهش فاکتور لوردوز در مطالعه حاضر به‌ویژه با دوز ۴۰۰ عصاره آبی رازیانه می‌باشد. هسته هیپوتالاموسی شکمی میانی مرکز کنترل رفتار جنسی جوندگان ماده می‌باشد. آسیب به این هسته منجر به کاهش یا از بین رفتن این رفتار در جوندگان می‌گردد و تجویز هورمون استرادیول به طور مستقیم به این هسته باعث بروز این رفتار می‌شود. نرون های موجود در این هسته سطوح بالایی از گیرنده های استرادیول را بیان می‌کنند. ماده زدایی مغز طی دوره تکوین یک فرآیند وابسته به استرادیول است که از تشکیل مدارهای نورونی جنس ماده به طور طبیعی جلوگیری کرده و منجر به کاهش یا سرکوب رفتار جنسی ماده می‌گردد (۲۵). مشاهده کاهش فاکتور لوردوز در مطالعه

medicine and modern phytotherapy. *Chin J Integr Med* 2013; 19(1):73-9.

10. Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH. *Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. *Biomed Res Int* 2014; 2014:842674.

11. Rather MA, Dar BA, Sofi SN, Bhat BA, Qurishi MA. *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arab J Chem* 2016; 9: 1574-1583.

12. Okdemir D, Hatipoglu N, Kurtoglu S, Akin L, Kendirci M. Premature thelarche related to fennel tea consumption. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2014; 27(1-2): 175-9.

13. Mojahed R, Movahedi M, Torabzadeh Khorasani P. *eratogenic* Effects of Aqueous Fennel Seed Extract on BALB/C Mice Embryos during Pregnancy. *J Zanjan Univ Med Sci* 2016; 24(104): 49-58.

14. Nakagawa Y, Suzuki T. Cytotoxic and xenoestrogenic effects via biotransformation of trans-anethole on isolated rat hepatocytes and cultured MCF-7 human breast cancer cells. *Biochemical Pharmacology* 2003; 66: 63-73.

15. Caligioni CS. Assessing reproductive status/stages in mice. *Curr Protoc Neurosci* 2009; Appendix 4: Appendix 4I.

16. Ksheerasagar RL, Kaliwal BB. Effects of carbosulfan administration schedules on estrous cycle and follicular dynamics in albino mice. *Ind Health* 2008; 46(3): 210-6.

17. Willoughby KN, Sarkar AJ, Boyadjieva NI, Sarkar DK. Neonatally Administered tert-Octylphenol Affects Onset of Puberty and Reproductive Development in Female Rats. *Endocrine* 2005; 26, 161-68.

18. Ebling FJ. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction* 2005; 129(6): 675-83.

19. Foster PM, McIntyre BS. Endocrine active agents: implications of adverse and non-adverse changes. *Toxicol Pathol* 2002; 30:59- 65.

20. Nah WH, Park MJ, Gye MC. Effects of early prepubertal exposure to bisphenol A on the onset of puberty, ovarian weights, and estrous cycle in

دانشگاه (شماره ۶۸۴۲۴/۷/د) انجام شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور تقدیر و تشکر می‌گردد.

#### منابع

1. Jefferson WN, Patisaul HB, Williams CJ. Reproductive consequences of developmental phytoestrogen exposure. *Reproduction* 2012; 143(3): 247-60.

2. Tena-Sempere M. The Kisspeptin System as Putative Target for Endocrine Disruption of Puberty and Reproductive Health. In: Bourguignon JP, Jegou B.; Kerdelhue B, Toppari J, Christen Y. editors. *Multi-System Endocrine Disruption*. Springer; Berlin Heidelberg: 2011. p. 23-41.

3. Wilson CA, Davies DC. The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. *Reproduction* 2007; 133(2): 331-59.

4. Brown NM, Setchell KDR. Animal models impacted by phytoestrogens in commercial chow: implications for pathways influenced by hormones. *Lab Invest* 2001; 81: 735-747.

5. Henry LA, Witt DM. Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior. *Dev Neurosci* 2006; 28(3): 186-95.

6. Kouki T, Kishitake M, Okamoto M, Oosuka I, Takebe M, Yamanouchi K. Effects of neonatal treatment with phytoestrogens, genistein and daidzein, on sex difference in female rat brain function: estrous cycle and lordosis. *Horm Behav* 2003; 44(2): 140-5.

7. Kouki T, Okamoto M, Wada S, Kishitake M, Yamanouchi K. Suppressive effect of neonatal treatment with a phytoestrogen, coumestrol, on lordosis and estrous cycle in female rats. *Brain Res Bull* 2005; 64(5): 449-54.

8. Parandin R, Behnam-Rassouli M, Mahdavi-Shahri N. Effects of Neonatal Exposure to Zearalenone on Puberty Timing, Hypothalamic Nuclei of AVPV and ARC, and Reproductive Functions in Female Mice. *Reprod Sci* 2017; 24(9): 1293-1303.

9. Rahimi R, Ardekani MR. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill in traditional Iranian

- female mice. *Clin Exp Reprod Med* 2011; 38(2): 75-81.
21. vom Saal FS, Quadagno DM, Even MD, Keisler LW, Keisler DH, Khn S. Paradoxical effects of maternal stress on fetal steroids and postnatal reproductive traits in female mice from different intrauterine position. *Biol Reprod* 1990; 43: 751-61.
22. Wiegand SJ, Terasawa E, Bridson WE, Goy RW. Effects of discrete lesions of preoptic and suprachiasmatic structures in the female rat. Alterations in the feedback regulation of gonadotropin secretion. *Neuroendocrinology* 1980; 31(2): 147-157.
23. May PC, Kohama SG, Finch CE. N-methyl-aspartic acid lesions of the arcuate nucleus in adult C57BL/6J mice: a new model for age-related lengthening of the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 1989; 50(5): 605-612.
24. Terasawa E, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev* 2001; 22(1): 111-51.
25. McCarthy, M. M. Estradiol and the developing brain. *Physiol Rev* 2008; 88: 91-124.
26. Chattopadhyay S, Ghosh SP, Ghosh D, Debnath J. Effect of Dietary Co-Administration of Sodium Selenite on Sodium Arsenite-Induced Ovarian and Uterine Disorders in Mature Albino Rats. *Toxicol Sci* 2003; 75: 412-422.
27. Singh S, Lata S. Low dose effect of in-utero exposure to genistein on reproduction of female mouse. *Indian J.Sci.Res* 2014; 9 (1): 039-046.
28. Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environ Heath Perspect* 1997; 105:70-6.
29. vom Saal FS, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Parmigiani S, Welshons WV. A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicol Ind Health* 1998; 14: 239-60.
30. Gaido KW, Leonard LS, Lovell S, Gould JC, Babai D, Portier CJ, McDonell DC. Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 143: 205-12.