Effect of Nettle Root Extract on Histometrical Parameters of Cerebral and Cerebellar Cortices in Rat Following Administration of Testosterone

Sajad Sahab Negah[1, 2], Zabihollah Khaksar[2], Shahin Mohammad Sadeghi[3], Naeem Erfanimajd[4], Sayed Mostafa Modarres Mousavi[1], Hadi Aligholi[1, 5], Masoud Adibmoradi[6], Hamid Reza Moradi[6*]

[1]Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran.

[2]Histology and Embryology Group, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

[3]Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[4]Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

[5]Neuroscience Group, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[6]Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

Article Info:

Received: **19 Jan 2015** ***Accepted*****: 4 Feb 2015**

ABSTRACT

Introduction: Testosterone is a steroid hormone secreted by gonads and adrenal glands. High dose of testosterone leads to decrease neurogenesis and induce apoptosis in vitro. To modulate testosterone effect, plants contain anti-androgenic properties can be useful. Urtica dioica, often called common nettle, contains anti-androgen compounds. Furthermore, the phytoestrogens effects of nettle have been evaluated. In this study, the effect of nettle root extract on histological structures of the cerebral and cerebellar cortices of rats was evaluated after testosterone injection. ***Materials and Methods:*** Twenty healthy adult male Wistar rats were divided randomly into 4 groups: control group (received ordinary feed without any treatment), testosterone group (received 10 mg/kg testosterone subcutaneously), nettle root extract group (received 50 mg/kg nettle root extract orally), nettle + testosterone group (received 50 mg/kg orally nettle root extract and 10 mg/kg testosterone). After 6 weeks, the brains were stained by hematoxylin and eosin. The number of neuronal cell body, nuclear diameter of neurons, diameter of Purkinje cells, and diameter of cerebellar layers were measured. ***Results:*** There were no significant differences in the mean number of neuronal cell body in cerebral cortex, diameter of Purkinje cells in cerebellum, and thickness of cerebellar layers among different groups. The nuclear diameter of neurons in inner granular layer of cerebrum in the testosterone group significantly increased compared to the nettle and nettle + testosterone groups. ***Conclusion:*** Nettle plant can be considered as a testosterone modulator. To determine more precise effect of nettle on the brain, further studies are needed.

Key words:

1. Brain
2. Rats
3. Urtica dioica
4. Testosterone

*** *Corresponding Author:*** Hamid Reza Moradi

E-mail: *hmoradi20@yahoo.com*

بررسی اثر عصارهٔ ریشهٔ گزنه بر پارامترهای هیستومتریک قشر مخ و مخچه در موش‌های صحرایی متعاقب تجویز تستوسترون

سجاد سحاب نگاه[۱،۲]، ذبیح الله خاکسار[۲]، شاهین محمد صادقی[۳]، نعیم عرفانی مجد[۴]، سید مصطفی مدرس موسوی[۱]، هادی علیقلی[۱،۵]، مسعود ادیب مرادی[۶]، حمیدرضا مرادی[۶*]

[۱]مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیاء، تهران، ایران.
[۲]بخش بافت شناسی و جنین شناسی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
[۳]گروه جراحی پلاستیک و ترمیمی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
[۴]گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
[۵]گروه علوم اعصاب، دانشکده فن آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۶]گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۹ دی ۱۳۹۳
تاریخ پذیرش: ۱۵ بهمن ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: تستوسترون یک هورمون استروئیدی است که توسط گنادها و غدد آدرنال ترشح می‌شود. دوز بالای تستوسترون منجر به کاهش نورون زایی می‌شود و آپوپتوز را در شرایط آزمایشگاهی القاء می‌کند. جهت تعدیل اثر تستوسترون، گیاهان حاوی ویژگی‌های آنتی آندروژن می‌توانند مفید باشند. اورتیکا دیوئیکا که اغلب به نام گزنه رایج است، حاوی ترکیبات آنتی آندروژنی می‌باشد. علاوه بر این، اثرات فیتواستروژنی گزنه ارزیابی شده است. در این مطالعه اثر عصارهٔ ریشهٔ گزنه بر ساختارهای بافتی قشر مخ و مخچهٔ موش‌های صحرایی بعد از تزریق تستوسترون مورد ارزیابی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** ۲۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار بالغ نر سالم به صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه کنترل (تغذیهٔ معمولی بدون هیچ‌گونه درمانی دریافت کردند)، گروه تستوسترون (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تستوسترون به صورت زیر جلدی دریافت کردند)، گروه عصارهٔ ریشهٔ گزنه (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ ریشهٔ گزنه به صورت خوراکی دریافت کردند) و گروه گزنه + تستوسترون (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ ریشهٔ گزنه به صورت خوراکی و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تستوسترون دریافت کردند). پس از ۶ هفته، مغزها توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. تعداد جسم سلولی نورونی، قطر هستهٔ نورون‌ها، قطر سلول‌های پورکنژ و قطر لایه‌های مخچه اندازه گیری شد. **یافته‌ها:** هیچ تفاوت معنی‌داری در میانگین تعداد جسم سلولی نورونی در قشر مخ، قطر سلول‌های پورکنژ در مخچه و ضخامت لایه‌های مخچه بین گروه‌های مختلف وجود نداشت. قطر هستهٔ نورون‌ها در لایهٔ گرانولار داخلی مخ در گروه تستوسترون نسبت به گروه‌های گزنه و گزنه + تستوسترون به طور معنی داری افزایش یافت. **نتیجه گیری:** گیاه گزنه می‌تواند به عنوان یک تعدیل کنندهٔ تستوسترون در نظر گرفته شود. جهت تعیین اثر دقیق‌تر گزنه بر مغز، مطالعه‌های بیشتری مورد نیاز است.

کلید واژه‌ها:
۱. مغز
۲. موش‌های صحرایی
۳. اورتیکا دیوئیکا
۴. تستوسترون

* **نویسنده مسئول:** حمیدرضا مرادی
آدرس الکترونیکی: *hmoradi20@yahoo.com*

مقدمه

تستوسترون هورمونی است که توسط غدد جنسی و آدرنال تولید می‌گردد و از طریق سیستم گردش خون به مغز انتقال می‌یابد (۱). تزریق دوز بالای این هورمون جهت افزایش نیرو و حجم عضله‌ها در ورزشکاران رو به افزایش است که منجر به ایجاد اختلال‌های گوناگونی از قبیل افزایش فشار خون[۱]، تصلب شرایین[۲]، نئوپلاسم کبدی[۳]، سرطان[۴]، آسیب تاندونی[۵]، اختلال‌های روانی و رفتاری، ناباروری و عقیمی می‌گردد و همچنین در مطالعات جهت القای هیپرپلازی[۶] پروستات از این هورمون استفاده می‌شود (۴-۲).

هورمون‌های جنسی به خصوص تستوسترون در زمان بلوغ افزایش می‌یابند که این افزایش منجر به ایجاد تغییرات فیزیولوژیک در اندام‌های بدن می‌شود. مغز نیز از این امر مستثنا نمی‌باشد و دچار تغییر شکل می‌شود که این تغییر ممکن است با تغییر رفتارهای شناختی و احساسی در طول این دوره از رشد در ارتباط باشد (۵، ۶).

مطالعه‌های انجام شده در انسان و مدل‌های آزمایشگاهی نشان داده است که در زمان بلوغ، قشر مغز نازک تر می‌شود و زواید نورونی در نواحی خاصی از قشر مغز به طور چشم‌گیری کاهش می‌یابند (۸، ۷) در حالی‌که افزایش حجم نواحی لیمبیک از قبیل آمیگدال و هیپوکامپ و نیز مسیرهای رشته‌های میلین دار شده در این زمان دیده می‌شود (۱۰، ۹). هر چند عامل اصلی که باعث این تغییرات مورفولوژیکی در طول بلوغ می‌شود هنوز ناشناخته است، با این وجود، شواهدی مبنی بر اینکه هورمون‌های جنسی ممکن است در این فرایند درگیر شوند موجود می‌باشد (۱۱).

علاوه بر تغییرات مورفولوژیکی ممکن است تغییر در سطح سلولی با بلوغ و تغییر در سطح هورمون‌های جنسی به خصوص تستوسترون نیز رخ دهد. یک تغییر قابل توجه که در ارتباط با بلوغ رخ می‌دهد کاهش تکثیر سلولی و نورون زایی[۷] در شکنج دندانه‌دار هیپوکامپ می‌باشد (۱۲). به نظر می‌رسد میزان سطح طبیعی تستوسترون موجود در خون، نورون زایی را در بالغین حفظ می‌کند و یا افزایش می‌دهد، در حالی‌که مطالعات نشان می‌دهند که دوز بالای تستوسترون (خارج از محدودهٔ فیزیولوژیک) بر نورون زایی اثر منفی دارد، به طوری‌که باعث کاهش تعداد سلول‌های نشاندار شده با BrdU[۸] می‌شود (۱۳).

مطالعات در شرایط In vitro نیز گویای این امر است به طوری‌که غلظت پایین تستوسترون باعث افزایش رشد زواید نورونی می‌شود در حالی‌که غلظت بالای تستوسترون باعث القای آپوپتوز می‌گردد (۱۵، ۱۴). طی یک مطالعهٔ تجربی، Uchida و همکاران نشان دادند که مقادیر نسبتاً کم تستوسترون حجم انفارکتوس مغزی را در میان موش‌های نر با ایسکمی مغزی کانونی کاهش می‌دهد، در حالی‌که دوز بالای هورمون تستوسترون افزایش حجم انفارکتوس را به همراه دارد (۱۶).

با توجه به اینکه دوز بالای تستوسترون منجر به ایجاد تغییرات مورفولوژیکی و همچنین کاهش نورون زایی در بالغین می‌شود، امروزه جهت کاهش عوارض ناشی از دوز بالای تستوسترون از مواد حاوی آنتی آندروژن استفاده می‌شود. از جمله گیاهانی که خواص آنتی آندروژنی دارد گیاه گزنه می‌باشد. گیاه گزنه با نام علمی اورتیکا دیوئیکا[۹] از خانواده اورتیکاسه‌آ[۱۰] می‌باشد. مهم‌ترین جنس این تیره اورتیکا می‌باشد که دارای ۵۰ گونه است (۱۷). هر چند ترکیبات زیادی در عصاره‌های آبی یا الکلی ریشهٔ گزنه گزارش شده‌اند، با این حال ترکیبات فعال اصلی موجود در آن هنوز به طور کامل شناسایی نشده‌اند. تأثیرات گزنه به بیش از یک دسته از مواد شیمیایی نسبت داده شده‌اند. می‌توان گفت مهم‌ترین ترکیبات موجود در ریشهٔ گزنه و مسئول آثار فارماکولوژیک آن لیگنان‌ها، استرول‌ها، فلاونوئیدها، پلی‌ساکاریدها، لکتین‌ها و اسیدهای چرب هستند (۱۹، ۱۸).

این ترکیبات اجزای اصلی فیتواستروژن‌ها با شباهت‌های ساختاری به استروژن و آنتی استروژن‌های طبیعی و مصنوعی هستند (۲۰) که از فعالیت آنزیم‌های ۵ آلفا-ردوکتاز[۱۱] و 17β-HSD[۱۲] ممانعت می‌کنند (۲۱). اثرات فیتواستروژن‌ها بر سیستم عصبی مرکزی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. ایزوفلاون‌های موجود در فیتواستروژن‌ها موجب افزایش سطوح mRNA فاکتورهای نوروتروفیک مشتق شده از مغز، استیل کولین ترانسفراز و فاکتورهای رشد عصبی در قشر مخ و هیپوکامپ می‌گردند (۲۳، ۲۲). همچنین گزارش شده است که فیتواستروژن‌ها با ممانعت از اتصال آنزیم آروماتاز[۱۳] به سوبسترا، با آندروژن رقابت می‌کنند (۲۴).

در مطالعه‌ای جهت درمان هیپرپلازی پروستات ناشی از دوز بالای تستوسترون، از عصارهٔ ریشهٔ گزنه استفاده گردید که کاهش چشم‌گیری در پارامترهای هیستومتریک مشاهده شد (۴). یافته‌ها حاکی از آن بود که ایزوفلاون‌های موجود در گیاه گزنه می‌توانند بر فاکتورهای نوروتروفیک مشتق شده از مغز، استیل کولین ترانسفراز و فاکتورهای رشد عصبی در قشر مغز تأثیر بگذارند. همچنین با توجه به اینکه اثرات تستوسترون بر مغز در دوزهای مختلف متفاوت است و عصارهٔ ریشهٔ گزنه دارای خاصیت آنتی آندروژنی می‌باشد، در این راستا در تحقیق حاضر سعی گردید تا اثرات این گیاه دارویی بر ساختار بافتی قشر مخ و مخچه متعاقب تزریق تستوسترون بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

تستوسترون از شرکت نیل مصر، قطرهٔ خوراکی اورتیدین (عصارهٔ ریشهٔ گزنه) از شرکت باریج اسانس ایران و کیت اندازه‌گیری تستوسترون موش صحرایی از شرکت DRG آلمان خریداری شدند.

[1] Hypertension
[2] Atherosclerosis
[3] Hepatic neoplasms
[4] Carcinoma
[5] Tendon damage
[6] Hyperplasia
[7] Neurogenesis
[8] Bromodeoxyuridine
[9] *Urtica dioica*
[10] Urticaceae
[11] 5 α Reductase
[12] 17Beta Hydroxysteroid Dehydrogenase
[13] Aromatase enzyme

آماده سازی حیوانات و طرح آزمایش

۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ به ظاهر سالم با میانگین وزنی ۲۰ ± ۲۹۰ گرم با سن تقریبی ۴-۳/۵ ماه از خانهٔ تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز خریداری شدند. حیوانات به مدت یک هفته به منظور سازش با شرایط محیطی نگهداری شدند. موش‌های صحرایی دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. یک روز قبل از شروع تزریق‌ها، موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۴ گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

- **گروه اول (گروه کنترل):** شامل ۵ سر موش صحرایی که به عنوان شاهد و بدون درمان در شرایط یکسان محیطی و تغذیه‌ای با سایر گروه‌ها بودند.
- **گروه دوم (تستوسترون):** شامل ۵ سر موش صحرایی که روزانه یک دوز تستوسترون به میزان ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند.
- **گروه سوم (گزنه):** شامل ۵ سر موش صحرایی که روزانه یک دوز عصارهٔ ریشهٔ گزنه به میزان ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت خوراکی (گاواژ)[14] با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ دریافت کردند.
- **گروه چهارم (گزنه + تستوسترون):** شامل ۵ سر موش صحرایی که روزانه به صورت خوراکی (گاواژ) عصارهٔ ریشهٔ گزنه با دوز ۵۰ mg/kg همزمان با تستوسترون با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم را دریافت کردند. آزمایش به مدت ۶ هفته به طول انجامید.

مطالعهٔ بافت شناسی

یک روز بعد از آخرین تجویز، موش‌های صحرایی به آزمایشگاه منتقل شدند و پس از توزین حیوانات، توسط کلروفرم بیهوش شدند. روش کشتن حیوانات همگی براساس قوانین کمیتهٔ مراقبت از حیوانات ایران و طبق آیین نامهٔ اخلاقی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت. استخوان‌های جمجمه برداشته شدند و مغز به طور کامل جدا گردید. با برشی طولی، مغز به دو نیمکره چپ و راست تقسیم و نیمکرهٔ چپ به منظور انجام مراحل بافتی در محلول ثابت کنندهٔ فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شد. به منظور مطالعهٔ میکروسکوپی نمونه‌های پایدار شده به روش استاندارد تهیهٔ مقاطع بافتی پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۶-۵ µm تهیه شدند و با استفاده از روش H&E[15] رنگ آمیزی و مورد مطالعهٔ هیستومورفومتری قرار گرفتند.

در بخش میکرومتری نیز با استفاده از عدسی چشمی مدرج، لنز دیجیتال Dino-Lite و نرم‌افزار Dino Capture 1، ساختار هیستومتریک مغز شامل قطر هستهٔ نورون‌ها در قشر مخ، میانگین ضخامت لایه‌های مولکولار، گرانولار و پورکنژ مخچه و همچنین قطر سلول‌های پورکنژ اندازه گیری شد. میانگین تعداد جسم سلولی نورون‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Dino Capture 1 شمارش شد. روش شمارش به این صورت بود که ابتدا از هر ناحیهٔ مورد مطالعهٔ مغز موش، تعداد ۵ عدد برش بافتی به فاصلهٔ ۶۰ میکرومتر از یکدیگر انتخاب گردید و سپس از هر برش ۵ عکس با بزرگنمایی ۲۰۰ تهیه شد. همچنین سلول‌های گلیال و نورون‌ها از لحاظ مورفولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند، به این صورت که سلول‌های گلیال با اندازهٔ هسته کوچکتر و هتروکروماتین بیشتر نسبت به نورون‌ها تشخیص داده شدند.

اندازه گیری سطح سرمی تستوسترون

نمونه‌های خون با استفاده از سرنگ ۵ cc از قلب موش‌های صحرایی گرفته و سپس لوله های حاوی خون فاقد مادهٔ منعقد کننده در بن ماری ۳۷ C° به مدت حداقل یک ساعت قرار داده شدند. با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، سرم نمونه‌ها جدا گردید و تا زمان سنجش هورمونی در فریزر ۷۰- C° منجمد و نگهداری شدند. سپس سطح سرمی تستوسترون نمونه‌ها توسط کیت اندازه‌گیری تستوسترون به روش الایزا اندازه گیری شدند.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه، پس آزمون توکی[16] استفاده گردید و $P<0/05$ معنی دار تلقی گردید.

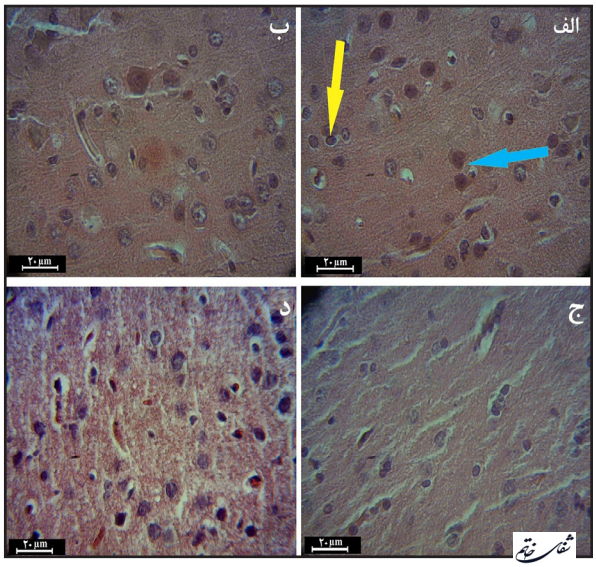
یافته‌ها

نتایج بافت شناسی

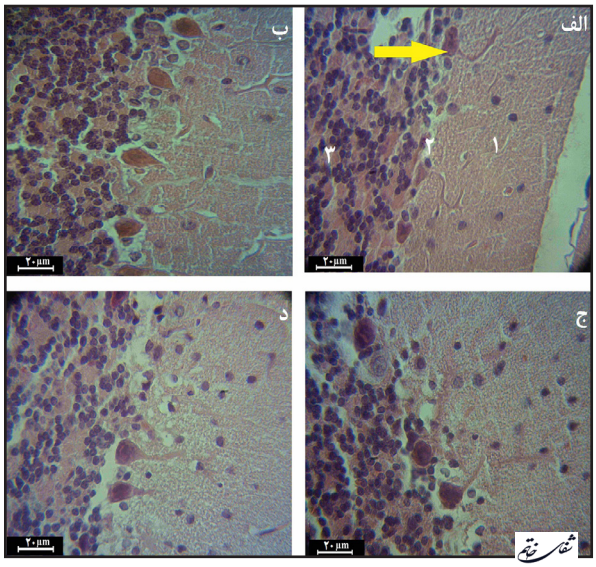
نتایج بافت شناسی حاصل از این تحقیق نشان داد که سلول‌های موجود در لایهٔ گرانولار داخلی قشر مخ در گروه تستوسترون نسبت به گروه‌های گزنه و گزنه + تستوسترون بزرگتر مشاهده شدند (تصویر ۱). در مطالعهٔ بافت شناسی مخچه، سلول‌های پورکنژ مخچه در گروه گزنه + تستوسترون نسبت به گروه کنترل بزرگتر دیده شدند (تصویر ۲).

بررسی‌های هیستومتری قطر هستهٔ نورون‌ها، در بین گروه‌های مورد آزمایش تغییرهایی را نشان داد (نمودار ۱)، به طوری‌که در لایهٔ گرانولار داخلی بین گروه تستوسترون (۰/۱۴۹ ± ۹/۲۲ میکرومتر) در مقایسه با گروه‌های دریافت کنندهٔ گزنه (۰/۱۷۸ ± ۸/۱ میکرومتر)-($P<0/01$) و دریافت کنندهٔ گزنه + تستوسترون (۰/۱۹۱±۸/۴۴ میکرومتر)-($P<0/05$) افزایش معنی‌داری وجود داشت ($F(16، 3)=8/58$)-(نمودار ۱). در حالی‌که میانگین تعداد جسم سلولی نورون‌ها در بین هیچ‌کدام از گروه‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۲).

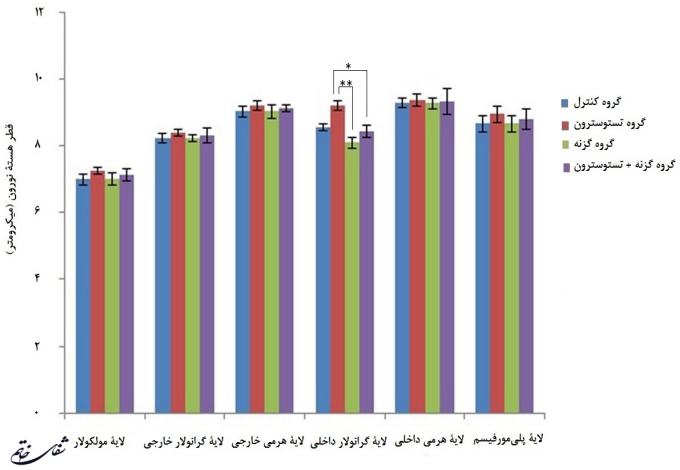
[14] Gavage
[15] Hematoxylin and Eosin stain
[16] Tukey



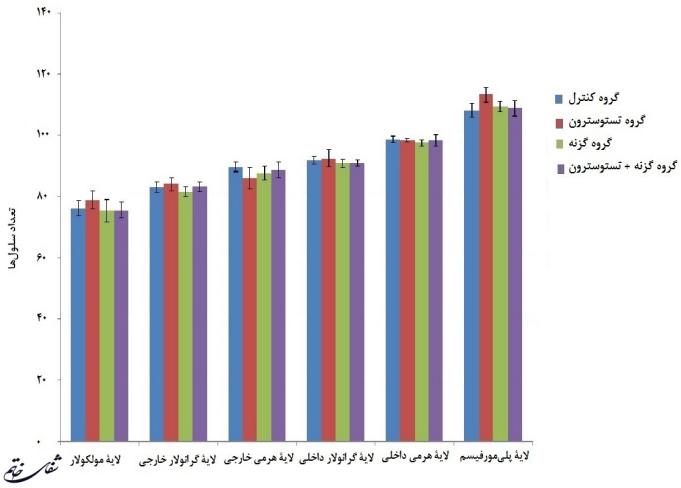
تصویر ۱- الف) لایهٔ گرانولار داخلی قشر مغز گروه کنترل ب) لایهٔ گرانولار داخلی در گروه تستوسترون ج) لایهٔ گرانولار داخلی در گروه گزنه د) لایهٔ گرانولار داخلی در گروه گزنه + تستوسترون (۴۰X). جسم سلولی نورون‌های موجود در لایهٔ گرانولار داخلی قشر مخ در گروه تستوسترون نسبت به گروه‌های گزنه و گزنه + تستوسترون بزرگتر مشاهده شدند. هستهٔ نوروگلی با فلش زرد و هستهٔ نورون با فلش آبی نشان داده شده است.



تصویر ۲- الف) برش عرضی مخچه گروهٔ کنترل ب) گروه گزنه + تستوسترون ج) گروه گزنه د) گروه تستوسترون (۴۰X). افزایش اندازهٔ سلول‌های پورکنژ در گروه گزنه + تستوسترون نسبت به گروه کنترل قابل توجه است. فلش زرد نشان‌دهندهٔ یک سلول پورکنژ می‌باشد.



نمودار ۱- میانگین و انحراف معیار قطر هستهٔ نورون‌ها در قشر مخ موش صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه. علامت ** نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار با سطح $P<0/01$ در بین گروه تستوسترون با گروه دریافت کنندهٔ گزنه می‌باشد و علامت * نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار با سطح $P<0/05$ در بین گروه تستوسترون با گروه گزنه + تستوسترون می‌باشد.



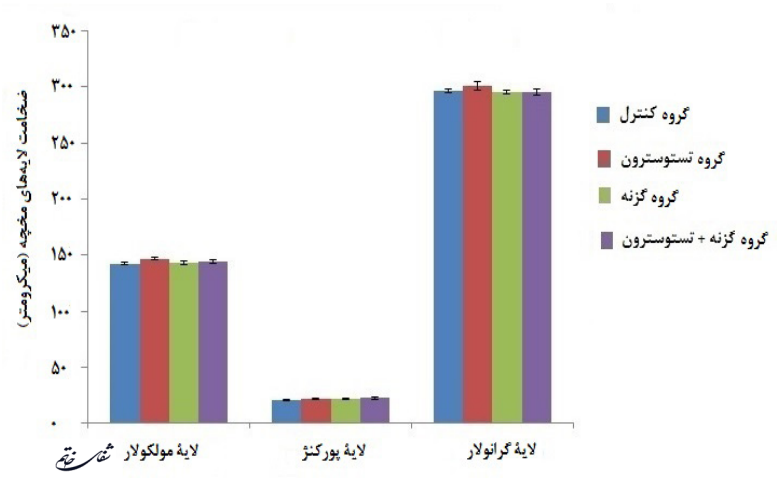
نمودار ۲- میانگین و انحراف معیار تغییر در تعداد جسم سلولی نورون‌ها در قشر مخ موش صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه.

میانگین ضخامت لایه‌های مولکولار، گرانولار و پورکنژ در نمودار ۳ نشان داده شده است که تغییر معنی‌داری در بین گروه‌ها مشاهده نشد. در این مطالعه، همچنین قطر سلول‌های پورکنژ اندازه گیری شد که میانگین این تغییرات در سلول‌ها، بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۴).

نتایج نمونه‌های سرمی تستوسترون

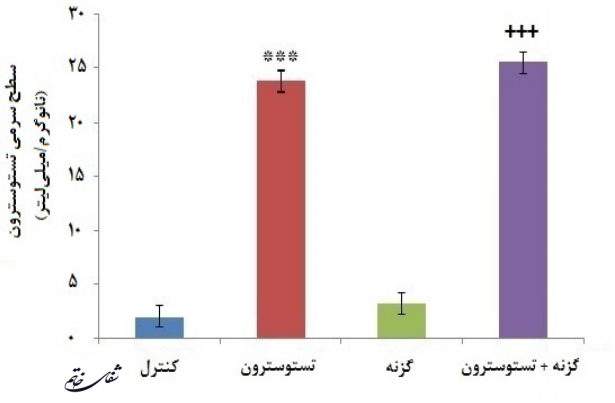
میانگین سطح سرمی تستوسترون در گروه‌های دریافت کنندهٔ تستوسترون (۰/۴۷ ± ۲۳/۸۳) و دریافت کنندهٔ گزنه + تستوسترون (۰/۴۱ ± ۲۵/۵۹) در مقایسه با گروه‌های کنترل (۰/۴۷ ± ۱/۹۷) و گزنه (۱/۶۹ ± ۳/۲۱) به صورت معنی‌داری افزایش داشتند ($F(۱۶، ۳)=۹۵۰/۳۴۲$، $P<۰/۰۰۱$).

میانگین سطح سرمی تستوسترون در گروه دریافت کنندهٔ تستوسترون در مقایسه با گروه دریافت کنندهٔ گزنه + تستوسترون کاهش غیر معنی‌داری را نشان داد. همچنین گروه گزنه در مقایسه با گروه کنترل دارای افزایش سطح تستوسترون سرم خون بود ولی این افزایش معنی‌دار نبود (نمودار ۵).



نمودار ۳- میانگین و انحراف معیار تغییر در ضخامت لایه‌های قشر مخچهٔ موش صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه.

نمودار ۴- میانگین و انحراف معیار تغییرات قطر سلول‌های پورکنژ مخچهٔ موش صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه.



نمودار ۵- میانگین و انحراف معیار تغییرات سرمی تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر) در بین گروه‌های مورد آزمایش. علامت *** نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار گروه تستوسترون با گروه‌های کنترل و گزنه با سطح $P<0/001$ می باشد. علامت +++ نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار گروه گزنه + تستوسترون با گروه‌های گزنه و کنترل با سطح $P<0/001$ می‌باشد.

بحث و نتیجه گیری

آندروژن‌ها با ایجاد تغییرات ساختاری در هسته‌های دی‌مورفیک جنسی هیپوتالاموس، تغییر در رشد سلول‌های هرمی هیپوکامپ و سلول‌های گرانولر شکنج دندانه‌دار[17] می‌توانند اثرات خود را اعمال کنند (۲۷-۲۵). طی یک مطالعهٔ تجربی بر روی موش‌های صحرایی عقیم شده، نشان داده شد که تجویز تستوسترون باعث نورون زایی می‌شود (۲۸). در حالی‌که طی یک مطالعهٔ دیگر، Spritzer و همکاران گزارش دادند که دوز بالای تستوسترون باعث کاهش نورون زایی می‌گردد (۲۹).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در گروه تستوسترون تعداد جسم سلولی نورون‌ها در لایه‌های مولکولار، گرانولار خارجی و پلی‌مورفیسم مخ افزایش غیر معنی‌داری داشت که با توجه به معنی‌دار نشدن این پارامتر در گروه‌های مختلف نمی‌توان راجع به تأثیر تستوسترون بر قشر قضاوت دقیقی داشت. براساس چندین مطالعه ثابت شده است که تستوسترون تأثیر مهمی بر مورفولوژی ساختارهای مغز دارد و همچنین ممکن است بر روی عملکرد این ساختارها مؤثر باشد (۳۰). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در گروه دریافت کنندهٔ تستوسترون، قطر هستهٔ نورون‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین لازم به توضیح است که تفاوت در گونهٔ حیوان مورد آزمایش، طول دورهٔ آزمایش، روش تجویز و دوز هورمون می‌تواند دلیل وجود این گزارش‌های مخالف و موافق با نتایج مطالعهٔ حاضر باشند، به طوری که یکی دیگر از عوامل مؤثر جهت بررسی آندروژن‌ها بر مغز مدت زمان مواجهه است (۳۱).

فیتواستروژن‌ها یک اثر محافظتی در مقابل تخریب نورونی ایجاد شده توسط کم کاری تخمدان دارند (۳۲) و شاید خواص نوروتروفیک نیز داشته باشند (۳۳). در مطالعهٔ حاضر، اثرات عصارهٔ ریشهٔ گزنه جهت کاهش عوارض ناشی از دوز بالای تستوسترون بررسی شد، به طوری‌که بررسی پارامترهای میکرومتری قشر مخ نشان داد که قطر هستهٔ نورون‌ها در گروه دریافت کنندهٔ گزنه + تستوسترون نسبت به گروه تستوسترون کاهش معنی‌دار داشت که می‌توان چنین استنباط کرد که گزنه تا حدی از اثر تستوسترون جلوگیری کرده است.

[17] Dentate gyrus

یکی دیگر از مباحث مربوط به اثرات فیتو استروژن‌ها بر مغز احتمال القای سمیت و آپوپتوز در مغز موش‌های صحرایی می‌باشد. مطالعهٔ مشخصه‌های قطر هسته و تعداد جسم سلولی نورون‌ها در بین گروه کنترل با گروه دریافت کنندهٔ گزنه هیچ گونه تغییر معنی‌داری را نشان نداد که با توجه به این نتایج، می‌توان چنین نتیجه گرفت که فیتو استروژن‌های موجود در گیاه گزنه منجر به آپوپتوز و القای سمیت نشده است که با نتایج Choi و Lee در تضاد می‌باشد (۳۴).

در این زمینه گیاه گزنه به عنوان یک تعدیل کنندهٔ اثر تستوسترون به خصوص در مورد متغیر قطر هستهٔ نورون می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. با توجه به معنی‌دار نشدن اثر گیاه گزنه بر دیگر شاخص‌های مورد مطالعه، تحقیقی با تعداد نمونهٔ بیشتر جهت بررسی دقیق‌تر پیشنهاد می‌گردد.

منابع

1. Stoffel-Wagner B. Neurosteroid metabolism in the human brain. Eur J Endocrinol. 2001; 145(6): 669-79.

2. Maravelias C, Dona A, Stefanidou M, Spiliopoulou C. Adverse effects of anabolic steroids in athletes: a constant threat. Toxicol Lett. 2005; 158(3): 167-75.

3. Zhang GY, Gu YQ, Wang XH, Cui YG, Bremner WJ. A Clinical Trial of Injectable Testosterone Undecanoate as a Potential Male Contraceptive in Normal Chinese Men 1. J Clin Endocrinol Metab. 1999; 84(10): 3642-7.

4. Moradi HR, Erfani Majd N, Esmaeilzadeh S, Fatemi Tabatabaei SR, editors. The histological and histometrical effects of Urtica dioica extract on rat's prostate hyperplasia. Veterinary Research Forum. 2015; 6 (1): 23-29.

5. Casey B, Duhoux S, Cohen MM. Adolescence: what do transmission, transition, and translation have to do with it? Neuron. 2010; 67(5): 749-60.

6. Giedd JN, Rapoport JL. Structural MRI of pediatric brain development: what have we learned and where are we going? Neuron. 2010; 67(5): 728-34.

7. Romer D, Walker E. Adolescent psychopathology and the developing brain : integrating brain and prevention science. Sowell ER, Thompson PM, Toga AW. Mapping adolescent brain maturation using structural magnetic resonance imaging. Adolescent psychopathology and the developing brain. Oxford University Press. 2007: 55-84.

8. Knickmeyer RC, Styner M, Short SJ, Lubach GR, Kang C, Hamer R, et al. Maturational trajectories of cortical brain development through the pubertal transition: unique species and sex differences in the monkey revealed through structural magnetic resonance imaging. Cereb Cortex. 2010; 20(5): 1053-63.

9. Cooke B. Synaptic reorganisation of the medial amygdala during puberty. J Neuroendocrinol. 2011; 23(1): 65-73.

10. Lebel C, Beaulieu C. Longitudinal development of human brain wiring continues from childhood into adulthood. J Neurosci. 2011; 31(30): 10937-47.

11. Raznahan A, Lee Y, Stidd R, Long R, Greenstein D, Clasen L, et al. Longitudinally mapping the influence of sex and androgen signaling on the dynamics of human cortical maturation in adolescence. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107(39): 16988-93.

12. Ho A, Villacis AJ, Svirsky SE, Foilb AR, Romeo RD. The pubertal-related decline in cellular proliferation and neurogenesis in the dentate gyrus of male rats is independent of the pubertal rise in gonadal hormones. Dev Neurobiol. 2012; 72(5): 743-52.

13. Spritzer MD, Ibler E, Inglis W, Curtis MG. Testosterone and social isolation influence adult neurogenesis in the dentate gyrus of male rats. Neuroscience. 2011; 195: 180-90.

14. Estrada M, Uhlen P, Ehrlich BE. Ca^{2+} oscillations induced by testosterone enhance neurite outgrowth. J Cell Sci. 2006; 119(4): 733-43.

15. Estrada M, Varshney A, Ehrlich BE. Elevated testosterone induces apoptosis in neuronal cells. J Biol Chem. 2006; 281(35): 25492-501.

16. Uchida M, Palmateer JM, Herson PS, DeVries AC, Cheng J, Hurn PD. Dose-dependent effects of androgens on outcome after focal cerebral ischemia in adult male mice. J Cereb Blood Flow Metab. 2009; 29(8): 1454-62.

17. Marty AT. The complete German commission E monographs: therapeutic guide to herbal medicines. JAMA. 1999; 281(19): 1852-3.

18. Akbay P, Basaran AA, Undeger U, Basaran N. In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from Urtica dioica L. Pharmacognosy Res. 2003; 17(1): 34-7.

19. Schöttner M, Gansser D, Spiteller G. Lignans from

the roots of Urtica dioica and their metabolites bind to human sex hormone binding globulin (SHBG). Planta Med. 1997; 63(6): 529-32.

20. Kurzer MS, Xu X. Dietary phytoestrogens. Annu Rev Nutr. 1997; 17(1): 353-81.

21. Evans B, Griffiths K, Morton M. Inhibition of 5α-reductase in genital skin fibroblasts and prostate tissue by dietary lignans and isoflavonoids. J Endocrinol. 1995; 147(2): 295-302.

22. Pan Y, Anthony M, Clarkson TB. Evidence for up-regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA by soy phytoestrogens in the frontal cortex of retired breeder female rats. Neurosci Lett. 1999; 261(1-2): 17-20.

23. Jhamandas JH, Cho C, Jassar B, Harris K, MacTavish D, Easaw J. Cellular mechanisms for amyloid beta-protein activation of rat cholinergic basal forebrain neurons. J Neurophysiol. 2001; 86(3): 1312-20.

24. Adlercreutz H, Bannwart C, Wähälä K, Mäkelä T, Brunow G, Hase T, et al. Inhibition of human aromatase by mammalian lignans and isoflavonoid phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol. 1993; 44(2): 147-53.

25. Hine RJ, Das GD. Neuroembryogenesis in the hippocampal formation of the rat. Z Anat Entwicklungsgesch. 1974; 144(2): 173-86.

26. Muramatsu R, Ikegaya Y, Matsuki N, Koyama R. Neonatally born granule cells numerically dominate adult mice dentate gyrus. Neuroscience. 2007; 148(3): 593-8.

27. Morris JA, Jordan CL, Breedlove SM. Sexual differentiation of the vertebrate nervous system. Nat Neurosci. 2004; 7(10): 1034-9.

28. Spritzer MD, Galea LA. Testosterone and dihydrotestosterone, but not estradiol, enhance survival of new hippocampal neurons in adult male rats. Dev Neurobiol. 2007; 67(10): 1321-33.

29. Spritzer MD, Ibler E, Inglis W, Curtis MG. Testosterone and social isolation influence adult neurogenesis in the dentate gyrus of male rats. Neuroscience. 2011; 195: 180-90.

30. Filova B, Ostatnikova D, Celec P, Hodosy J. The effect of testosterone on the formation of brain structures. Cells Tissues Organs. 2013; 197(3): 169-77.

31. Hines M. Early androgen influences on human neural and behavioural development. Early Hum Dev. 2008; 84(12): 805-7.

32. Xu XW, Shi C, He ZQ, Ma CM, Chen WH, Shen YP, et al. Effects of phytoestrogen on mitochondrial structure and function of hippocampal CA1 region of ovariectomized rats. Cell Mol Neurobiol. 2008; 28(6): 875-86.

33. Gleason C, Cholerton B, Carlsson C, Johnson S, Asthana S. Neuroprotective effects of female sex steroids in humans: current controversies and future directions. CMLS. 2005; 62(3): 299-312.

34. Choi EJ, Lee BH. Evidence for genistein mediated cytotoxicity and apoptosis in rat brain. Life Sci. 2004; 75(4): 499-509.