

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 Khaksar², Shahin Mohammad Sadeghi³, Naeem Erfanimajd⁴, Sayed Mostafa Modarres Mousavi¹, Hadi Aligholi^{1, 5}, Masoud Adibmoradi⁶, Hamid Reza Moradi^{6*}

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

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

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

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

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

⁶Department 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 عصاره ریشه گزنه بر پارامترهای هیستومتریک قشر مخ و مخچه در موش‌های صحرایی متعاقب تجویز تستوسترون

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

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

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۱۵ بهمن ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۲۹ دی ۱۳۹۳

چکیده

مقدمه: تستوسترون یک هورمون استروئیدی است که توسط گنادها و غدد آدرنال ترشح می‌شود. دوز بالای تستوسترون منجر به کاهش نرون 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 عصاره ریشه گزنه بر ساختارهای بافتی قشر مخ و مخچه 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 (تغذیه معمولی بدون هیچ‌گونه درمانی دریافت کردند)، گروه تستوسترون (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تستوسترون به صورت زیر جلدی دریافت کردند)، گروه عصاره ریشه گزنه (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره ریشه گزنه به صورت خوراکی دریافت کردند) و گروه گزنه + تستوسترون (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره ریشه 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 نوروئی، قطر هسته نوروئی، قطر سلول‌های پورکنز و قطر لایه‌های مخچه اندازه گیری شد. **یافته‌ها:** هیچ تفاوت معنی‌داری در میانگین تعداد جسم سلولی نوروئی در قشر مخ، قطر سلول‌های پورکنز در مخچه و ضخامت لایه‌های مخچه بین گروه‌های مختلف وجود نداشت. قطر هسته نوروئی در لایه گرانولار داخلی مخ در گروه تستوسترون نسبت به گروه‌های گزنه و گزنه + تستوسترون به طور معنی‌داری افزایش یافت. **نتیجه گیری:** گیاه گزنه می‌تواند به عنوان یک تعدیل کننده تستوسترون در نظر گرفته شود. جهت تعیین اثر دقیق تر 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

می‌دهد، در حالی که 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 دیوئیکیا^۸ از خانواده اورتیکاسه^۹ می‌باشد. مهم‌ترین جنس این تیره اورتیکا می‌باشد که دارای ۵۰ گونه است (۱۷). هر چند ترکیبات زیادی در عصاره‌های آبی یا الکلی ریشه 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 ریشه گزنه و مسئول آثار فارماکولوژیک آن لیگنان‌ها، استرول‌ها، فلاونوئیدها، پلی‌ساکاریدها، لکتین‌ها و اسیدهای چرب هستند (۱۸، ۱۹).

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 (۲۲، ۲۳). 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 عصاره ریشه 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 عصاره ریشه 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، قطره خوراکی اورتیدین (عصاره ریشه گزنه) از شرکت بارپچ اسانس ایران و کیت اندازه‌گیری تستوسترون موش صحرائی از شرکت DRG آلمان خریداری شدند.

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 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 حالی که افزایش حجم نواحی لیمبیک از قبیل آمیگدال و هیپوکامپ و نیز مسیرهای رشته‌های میلین دار شده در این زمان دیده می‌شود (۹، ۱۰). 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 حالی که مطالعات نشان می‌دهند که دوز بالای تستوسترون (خارج از محدوده فیزیولوژیک) بر نورون زایی اثر منفی دارد، به طوری که باعث کاهش تعداد سلول‌های نشاندار شده با BrdU^۸ می‌شود (۱۳).

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

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

همچنین قطر سلول‌های پورکنژ اندازه گیری شد. میانگین تعداد جسم سلولی نوروها نیز با استفاده از نرم‌افزار Dino Capture 1 شمارش شد. روش شمارش به این صورت بود که ابتدا از هر ناحیه مورد مطالعه مغز موش، تعداد ۵ عدد برش بافتی به فاصله ۶۰ میکرومتر از یکدیگر انتخاب گردید و سپس از هر برش ۵ عکس با بزرگنمایی ۲۰۰ تهیه شد. همچنین سلول‌های گلیال و نوروها از لحاظ مورفولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند، به این صورت که سلول‌های گلیال با اندازه هسته کوچکتر و هتروکروماتین بیشتر نسبت به نوروها تشخیص داده شدند.

اندازه گیری سطح سرمی تستوسترون

نمونه‌های خون با استفاده از سرنگ ۵ cc از قلب موش‌های صحرایی گرفته و سپس لوله‌های حاوی خون فاقد ماده منعقد کننده در بن ماری $37^{\circ}C$ 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 $-70^{\circ}C$ منجمد و نگهداری شدند. سپس سطح سرمی تستوسترون نمونه‌ها توسط کیت اندازه‌گیری تستوسترون به روش الیزا 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 \pm انحراف معیار ارائه شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه، پس آزمون توکی^{۱۴} 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 لایه گرانولار داخلی قشر مخ در گروه تستوسترون نسبت به گروه‌های گزنه و گزنه + تستوسترون بزرگتر مشاهده شدند (تصویر ۱). در مطالعه بافت شناسی مخچه، سلول‌های پورکنژ مخچه در گروه گزنه + تستوسترون نسبت به گروه کنترل بزرگتر دیده شدند (تصویر ۲).

بررسی‌های هیستومتری قطر هسته نوروها، در بین گروه‌های مورد آزمایش تغییرهایی را نشان داد (نمودار ۱)، به طوری که در لایه گرانولار داخلی بین گروه تستوسترون ($0.149 \pm$ میکرومتر) در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده گزنه ($0.178 \pm$ میکرومتر) ($P < 0.01$) و دریافت کننده گزنه + تستوسترون (0.191 ± 0.044 میکرومتر) ($P < 0.05$) افزایش معنی‌داری وجود داشت ($F(16, 3) = 8.58$) (نمودار ۱). در حالی که میانگین تعداد جسم سلولی نوروها در بین هیچ‌کدام از گروه‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد (نمودار ۲).

۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ به ظاهر سالم با میانگین وزنی $290 \pm$ گرم با سن تقریبی ۴-۳/۵ ماه از خانه تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده 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:

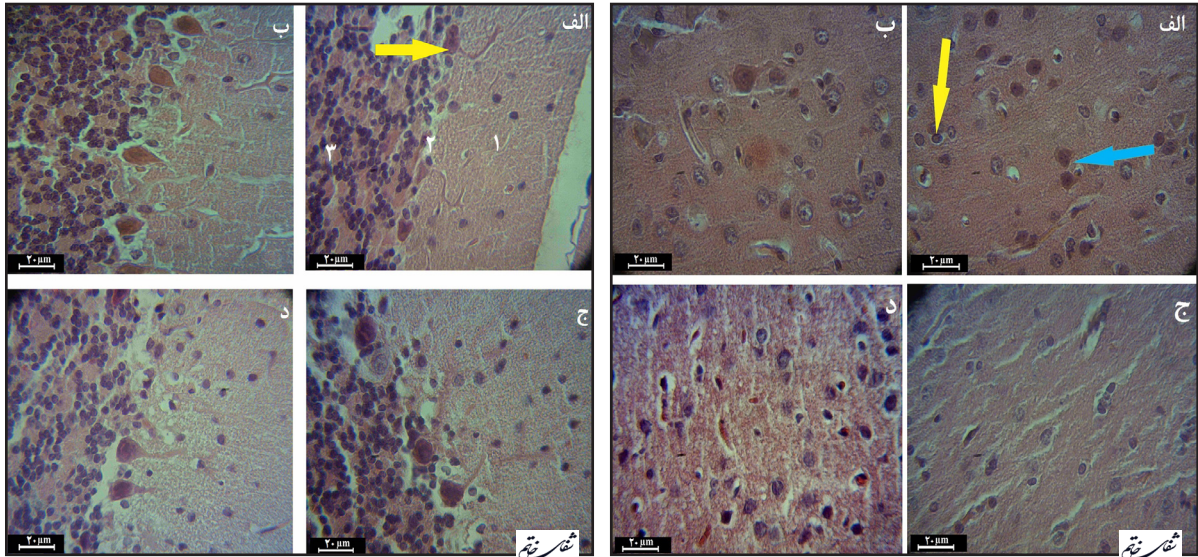
- **گروه اول (گروه کنترل):** شامل ۵ سر موش صحرایی که به عنوان شاهد و بدون درمان در شرایط یکسان محیطی و تغذیه‌ای با سایر گروه‌ها بودند.
- **گروه دوم (تستوسترون):** شامل ۵ سر موش صحرایی که روزانه یک دوز تستوسترون به میزان ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت تزریق زیر جلدی دریافت کردند.
- **گروه سوم (گزنه):** شامل ۵ سر موش صحرایی که روزانه یک دوز عصاره ریشه گزنه به میزان ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت خوراکی (گاواژ)^{۱۴} با استفاده از نیدل مخصوص گاواژ دریافت کردند.
- **گروه چهارم (گزنه + تستوسترون):** شامل ۵ سر موش صحرایی که روزانه به صورت خوراکی (گاواژ) عصاره ریشه 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.

مطالعه بافت شناسی

یک روز بعد از آخرین تجویز، موش‌های صحرایی به آزمایشگاه منتقل شدند و پس از توزین حیوانات، توسط کلروفورم بیهوش شدند. روش کشتن حیوانات همگی براساس قوانین کمیته مراقبت از حیوانات ایران و طبق آیین نامه اخلاقی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت. استخوان‌های مجامه برداشته شدند و مغز به طور کامل جدا گردید. با برشی طولی، مغز به دو نیمکره چپ و راست تقسیم و نیمکره چپ به منظور انجام مراحل بافتی در محلول ثابت کننده فرمالین بافر ۱۰٪ قرار داده شد. به منظور مطالعه میکروسکوپی نمونه‌های پایدار شده به روش استاندارد تهیه مقاطع بافتی پارافینی، برش‌هایی با ضخامت ۵-۶ μm تهیه شدند و با استفاده از روش H&E^{۱۵} رنگ آمیزی و مورد مطالعه هیستومورفومتری قرار گرفتند.

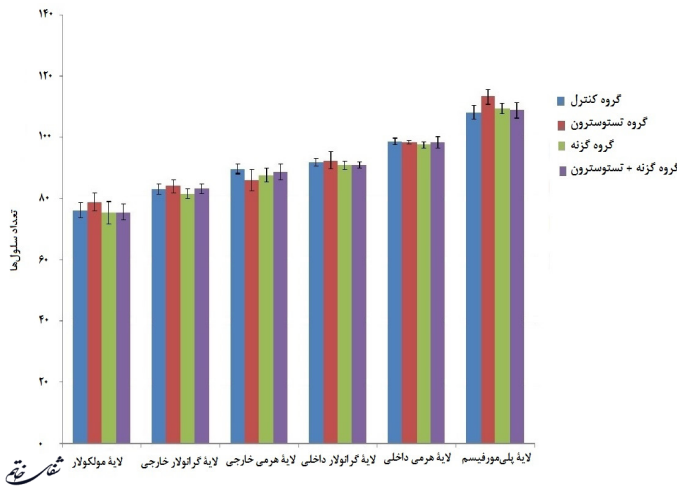
در بخش میکرومتری نیز با استفاده از عدسی چشمی مدرج، لنز دیجیتال Dino-Lite و نرم‌افزار Dino Capture 1، ساختار هیستومتریک مغز شامل قطر هسته نوروها در قشر مخ، میانگین ضخامت لایه‌های مولکولار، گرانولار و پورکنژ مخچه و

¹⁴ Gavage¹⁵ Hematoxylin and Eosin stain¹⁶ Tukey

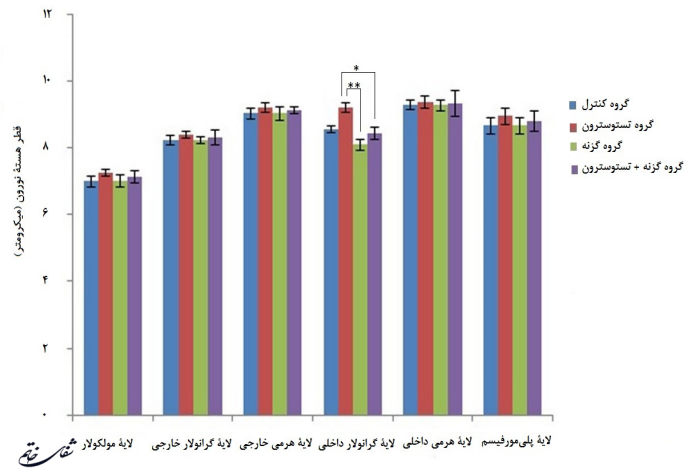


تصویر ۱- الف) لایه گرانولار داخلی قشر مغز گروه کنترل ب) لایه گرانولار داخلی در گروه تستوسترون ج) لایه گرانولار داخلی در گروه گزنه د) لایه گرانولار داخلی قشر مغز + تستوسترون نسبت به گروه کنترل قابل توجه است. فلش زرد نشان دهنده یک سلول پورکنز می باشد.

تصویر ۲- الف) برش عرضی مخچه گروه کنترل ب) گروه گزنه + تستوسترون ج) گروه گزنه د) گروه تستوسترون (۴۰X). افزایش اندازه سلول های پورکنز در گروه گزنه + تستوسترون نسبت به گروه کنترل قابل توجه است. فلش زرد نشان دهنده یک سلول پورکنز می باشد.



نمودار ۲- میانگین و انحراف معیار تغییر در تعداد جسم سلولی نورون ها در قشر مخ موش صحرایی در گروه های مورد مطالعه.



نمودار ۱- میانگین و انحراف معیار قطر هسته نورون ها در قشر مخ موش صحرایی در گروه های مورد مطالعه. علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با سطح $P < 0.01$ در بین گروه تستوسترون با گروه دریافت کننده گزنه می باشد و علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با سطح $P < 0.05$ در بین گروه تستوسترون با گروه گزنه + تستوسترون می باشد.

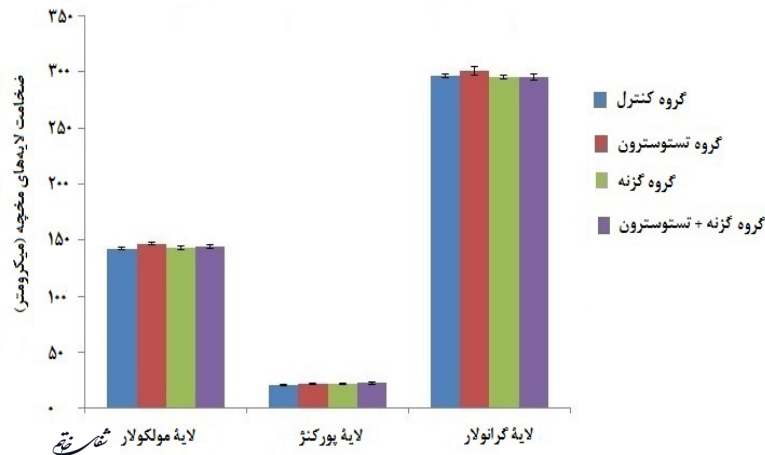
تستوسترون ($0.41 \pm 25/59$) در مقایسه با گروه های کنترل ($0.47 \pm 1/97$) و گزنه ($0.69 \pm 3/21$) به صورت معنی داری افزایش داشتند ($F(16, 3) = 95.0/342, P < 0.001$).

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

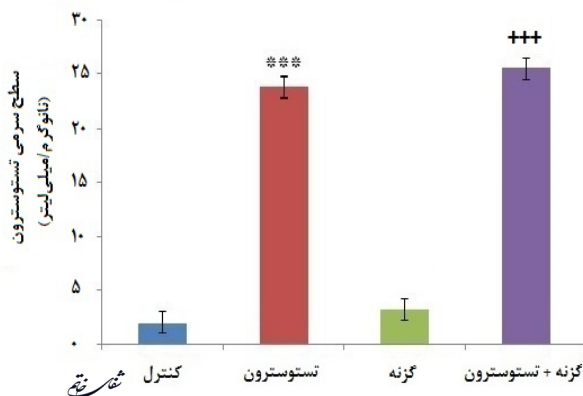
میانگین ضخامت لایه های مولکولار، گرانولار و پورکنز در نمودار ۳ نشان داده شده است که تغییر معنی داری در بین گروه ها مشاهده نشد. در این مطالعه، همچنین قطر سلول های پورکنز اندازه گیری شد که میانگین این تغییرات در سلول ها، بین گروه های مختلف اختلاف معنی داری را نشان نداد (نمودار ۴).

نتایج نمونه های سرمی تستوسترون

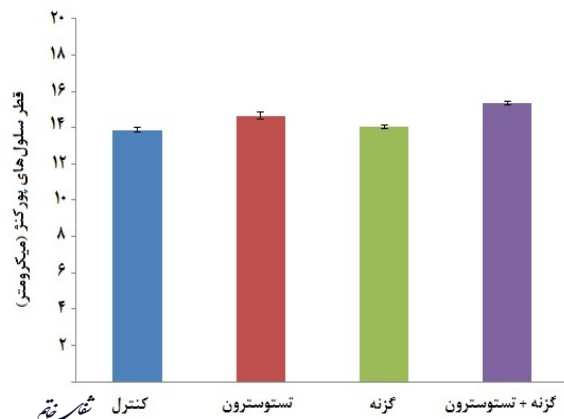
میانگین سطح سرمی تستوسترون در گروه های دریافت کننده تستوسترون ($0.47 \pm 23/83$) و دریافت کننده گزنه +



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



نمودار ۵- میانگین و انحراف معیار تغییرات سرمی تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر) در بین گروه‌های مورد آزمایش. علامت *** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه تستوسترون با گروه‌های کنترل و گزنه با سطح $P < 0.001$ می‌باشد. علامت +++ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار گروه گزنه + تستوسترون با گروه‌های گزنه و کنترل با سطح $P < 0.001$ می‌باشد.



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

است بر روی عملکرد این ساختارها مؤثر باشد (۳۰). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در گروه دریافت کننده تستوسترون، قطر هسته نوروها به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین لازم به توضیح است که تفاوت در گونه حیوان مورد آزمایش، طول دوره آزمایش، روش تجویز و دوز هورمون می‌تواند دلیل وجود این گزارش‌های مخالف و موافق با نتایج مطالعه 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 مطالعه حاضر، اثرات عصاره ریشه گزنه جهت کاهش عوارض ناشی از دوز بالای تستوسترون بررسی شد، به طوری که بررسی پارامترهای میکرومتری قشر مخ نشان داد که قطر هسته نوروها در گروه دریافت کننده گزنه + تستوسترون نسبت به گروه تستوسترون کاهش معنی‌دار داشت که می‌توان چنین استنباط کرد که گزنه تا حدی از اثر تستوسترون جلوگیری کرده است.

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^{۱۷} می‌توانند اثرات خود را اعمال کنند (۲۷-۲۵). طی یک مطالعه تجربی بر روی موش‌های صحرایی عقیم شده، نشان داده شد که تجویز تستوسترون باعث نوروژن زایی می‌شود (۲۸). در حالی که طی یک مطالعه دیگر، Spritzer و همکاران گزارش دادند که دوز بالای تستوسترون باعث کاهش نوروژن زایی می‌گردد (۲۹).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در گروه تستوسترون تعداد جسم سلولی نوروها در لایه‌های مولکولار، گرانولار خارجی و پلی‌مورفیسوم 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

¹⁷ Dentate gyrus

Lee و Choi در تضاد می‌باشد (۳۴).

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

یکی دیگر از مباحث مربوط به اثرات فیتو استروژن‌ها بر مغز احتمال القای سمیت و آپوپتوز در مغز موش‌های صحرایی می‌باشد. مطالعه مشخصه‌های قطر هسته و تعداد جسم سلولی نوروها در بین گروه کنترل با گروه دریافت کننده 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

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 5 α -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.