Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

Investigation of the Capillary Structure of Hippocampal Tissue of Healthy Rats after the Use of Urtica Dioica Hydroalcoholic Extract and Endurance Exercise

F. Gudarzi (PhD)[1], M. Rahmati (PhD)[*2], M. Roozbahani (PhD)[3], F. Chehlcheraghi (PhD)[4], A. Farzaneh Hesari (PhD)[1]

1.Department of Sports Physiology, School of Humanities, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, I.R.Iran.
2.Department of Sports Sciences, School of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, I.R.Iran.
3.Department of Motor Behavior, School of Humanities, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, I.R.Iran.
4.Medical Ethics and Law Research Center, Research Institute of Functional Neurosurgery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran.

*Corresponding Author: M. Rahmati (PhD)
Address: School of Literature and Humanities, Lorestan University, Khorramabad, I.R.Iran.
Tel: +98 (66) 33120106. **E-mail:** rahmati.mas@lu.ac.ir

Article Type
Research Paper

Received:
Feb 12nd 2024
Revised:
May 18th 2024
Accepted:
Jun 11st 2024

ABSTRACT

Background and Objective: The structure and function of the hippocampal capillary are closely related to the regulation of neurogenesis and synaptic plasticity. Maintaining the health and proper organization of the hippocampal capillary network is essential for optimal hippocampal tissue function and cognitive performance. Given the beneficial effects of exercise on the body as well as the antioxidant properties of Urtica Dioica, this study was conducted to investigate the effect of endurance exercise and hydroalcoholic extract of Urtica Dioica on histomorphometric estimates of the capillaries of the hippocampal tissue of healthy rats.

Methods: In the present experimental study, 28 male Wistar rats were divided into 4 groups (n=7): control, endurance exercise (Ex), Urtica Dioica (UD), and endurance exercise+nettle (UD+Ex). After a week of familiarization with the laboratory conditions and treadmill running, endurance exercise was performed 5 days a week and daily gavage of UD hydroalcoholic extract (50 mg/kg) was administered for six weeks. 48 hours after the completion of the research protocol, the rats were sacrificed. Then the hippocampal tissue was removed and placed in 10% formalin for hematoxylin-eosin staining. After tissue staining, histomorphometric estimates, the number of sections, length, volume, and area of capillaries in the rat hippocampal tissue were examined and compared.

Findings: The results showed that the number of vascular sections and capillary volume were not significantly affected by endurance exercise and Urtica Dioica, but the capillary area in the UD+Ex group (1.24±0.21 mm^2) significantly increased compared to the Ex (0.535±0.076 mm^2) (p=0.013) and UD (0.5±0.08 mm^2) (p=0.010) groups, although this increase was not different from the control group (0.815±0.15 mm^2). A decrease in the capillary volume of the hippocampal tissue of the UD group was observed compared to the other groups (p=0.001).

Conclusion: The results of the study showed that the combination of UD and exercise helped maintain the capillary structure and function of hippocampal tissue in healthy rats.

Keywords: *Hippocampus, Endurance Exercise, Urtica Dioica, Vascular Structure*.

Cite this article: Gudarzi F, Rahmati M, Roozbahani M, Chehlcheraghi F, Farzaneh Hesari A. Investigation of the Capillary Structure of Hippocampal Tissue of Healthy Rats after the Use of Urtica Dioica Hydroalcoholic Extract and Endurance Exercise. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2025; 27: e23.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

Copyright © 2024 Babol University of Medical Sciences. Published by Babol University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

بررسی ساختار مویرگی بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی سالم به دنبال استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه و تمرین استقامتی

فریبا گودرزی (PhD)[۱]، مسعود رحمتی (PhD)[۲*]، مهدی روزبهانی (PhD)[۳]، فرزانه چهلچراغی (PhD)[۴]، امین فرزانه حصاری (PhD)[۱]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
۲. گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۳. گروه رفتار حرکتی، دانشکده علوم انسانی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
۴. مرکز تحقیقات اخلاق و حقوق پزشکی، پژوهشکده جراحی مغز و اعصاب عملکردی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۲/۱۱/۲۳
اصلاح:
۱۴۰۳/۲/۲۹
پذیرش:
۱۴۰۳/۳/۲۲

چکیده

سابقه و هدف: ساختار و عملکرد مویرگی هیپوکامپ ارتباط نزدیکی با تنظیم نوروژنز و شکل پذیری سیناپسی دارد. حفظ سلامت و سازماندهی مناسب شبکه مویرگی هیپوکامپ برای عملکرد بهینه بافت هیپوکامپ و عملکرد شناختی ضروری است. با توجه به تاثیرات موثر تمرینات ورزشی بر بدن و همچنین خواص آنتی اکسیدانی گیاه گزنه، این مطالعه به منظور بررسی اثر تمرین استقامتی (Endurance Training= Ex) و عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه (Urtica Dioica= UD) بر تخمین‌های هیستومورفومتری مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی سالم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۲۸ سر موش نر نژاد ویستار به ۴ گروه ۷ تایی کنترل، تمرین استقامتی (Ex)، گزنه (UD) و تمرین استقامتی+گزنه (Ex+UD) تقسیم شدند. پس از یک هفته آشنایی با شرایط آزمایشگاه و دویدن بر تردمیل، تمرین استقامتی ۵ روز در هفته و گاواژ روزانه عصاره هیدروالکلی UD (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به مدت شش هفته اجرا گردید. ۴۸ ساعت پس از اتمام پروتکل پژوهش، موش‌ها قربانی شدند، سپس بافت هیپوکامپ خارج و در فرمالین ۱۰٪ برای رنگ آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین قرار داده شد. پس از رنگ آمیزی بافت، تخمین‌های هیستومورفومتری تعداد مقاطع، طول، حجم و مساحت مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش‌ها بررسی و مقایسه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تعداد مقاطع عروقی و حجم مویرگ‌ها تحت تاثیر معنی‌دار تمرین استقامتی و گزنه قرار نگرفت، اما مساحت مویرگ‌ها در گروه Ex+UD (۱/۲۴±۰/۲۱ میلی‌متر مربع) نسبت به گروه‌های Ex (۰/۵۳۵±۰/۰۷۶ میلی‌متر مربع) (p=۰/۰۱۳) و UD (۰/۵±۰/۰۸ میلی‌متر مربع) (p=۰/۰۱۰) افزایش معنی‌دار داشت، هر چند این افزایش تفاوتی با گروه کنترل (۰/۸۱۵±۰/۱۵ میلی‌متر مربع) نداشت. کاهش حجم مویرگی بافت هیپوکامپ گروه UD نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد (p=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که ترکیب UD و ورزش، به حفظ ساختار مویرگی و عملکرد بافت هیپوکامپ موش‌های سالم کمک می‌کند.

واژه‌های کلیدی: هیپوکامپ، تمرین ورزشی، گزنه، ساختار عروقی.

استناد: فریبا گودرزی، مسعود رحمتی، مهدی روزبهانی، فرزانه چهلچراغی، امین فرزانه حصاری. بررسی ساختار مویرگی بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی سالم به دنبال استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه و تمرین استقامتی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۴؛ ۲۷: e۲۳.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

▣ این مقاله مستخرج از پایان نامه فریبا گودرزی دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر مسعود رحمتی
آدرس: خرم آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده ادبیات و علوم انسانی. تلفن: ۳۳۱۲۰۱۰۶-۰۶۶ رایانامه: rahmati.mas@lu.ac.ir

مقدمه

مویرگ‌ها با تسهیل تبادل مواد مغذی و مواد زائد بین خون و بافت‌ها نقش مهمی در بدن را ایفا می‌کنند (۱). آن‌ها در حس کردن محیط بافت، هماهنگ کردن پاسخ‌های شبکه ریز عروقی و کنترل جریان خون نقش دارند (۲). مویرگ‌ها به عنوان یک عنصر کلیدی در کنترل همودینامیک شناخته می‌شوند و برای هموستاز متابولیک، هورمونی و ایمنی مهم هستند (۳). آن‌ها مسئول انتقال هورمون‌ها در سراسر بدن و تنظیم حمل و نقل در داخل اندوتلیوم مویرگی هستند (۴). مویرگ‌ها همچنین به تطابق جریان خون مویرگی با سرعت متابولیک سلول‌ها در اندام‌ها و بافت‌ها کمک می‌کنند و از تحویل مناسب مواد مغذی و حذف مواد زائد اطمینان حاصل می‌کنند (۵). پری‌سیت‌ها که مویرگ‌ها را احاطه کرده‌اند، به‌عنوان واسطه‌های کلیدی در تطبیق نیاز متابولیک بافت با جریان خون مویرگی کافی شناسایی شده‌اند. اختلال در ارتباط مویرگی می‌تواند منجر به اختلال در جریان خون، پاتوفیزیولوژی و بیماری شود. به طور کلی، مویرگ‌ها نقش اصلی را در حفظ عملکرد بافت و هموستاز دارند. مویرگ‌های مغز نقش مهمی در حفظ حیات سلولی و جلوگیری از تخریب عصبی دارند (۷و۶). آن‌ها منبع ثابتی از خون را برای پاسخگویی به تقاضای متابولیک بالای بافت مغز فراهم می‌کنند (۷).

مویرگ‌ها در مغز عملکردهای مختلفی از جمله انتقال و انتشار املاح، هموستاز متابولیک، همودینامیک عروقی و نفوذپذیری عروق دارند (۸). آن‌ها همچنین به عنوان سلول نگهبان مغز در سیستم ایمنی ذاتی عمل می‌کنند و قادر به ارائه آنتی ژن هستند. مویرگ‌های مغز می‌توانند از نظر قطر متفاوت باشند و در پاسخ به فعالیت عصبی دچار تغییراتی شوند. کنترل قطر مویرگی شامل عواملی مانند انقباض پری سیت و معماری دیواره اندوتلیال است. اختلال عملکرد مویرگ‌های مغز می‌تواند منجر به التهاب عصبی شود و به بیماری عروق کوچک مغزی کمک کند. به طور کلی، اهمیت مویرگ‌ها در مغز در نقش آن‌ها در حفظ هموستاز مغز و حمایت از عملکرد مناسب بافت مغز نهفته است. به علاوه، مویرگ‌های هیپوکامپ نیز نقش مهمی در عملکردها و آسیب شناسی‌های مختلف مغز دارند. آن‌ها در فرآیندهای حافظه نقش دارند و در شرایطی مانند بیماری آلزایمر، صرع لوب تمپورال و آنسفالیت لیمبیک مزمن تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱۰و۹). مشخص شده است که مویرگ‌های هیپوکامپ تحت تأثیر ورزش دویدن قرار می‌گیرند که می‌تواند علائم افسردگی را بهبود بخشد (۱۱). در مطالعه‌ای تمرین ورزشی دویدن اثرات مثبتی بر پارامترهای مویرگی در ناحیه هیپوکامپ CA1 و شکنج دندانه‌دار داشت و در نهایت منجر به بهبود علائم افسردگی شد (۹). در مطالعه Kaiser و همکاران نیز اثرات مثبت ورزش منظم، بدون در نظر گرفتن شدت، را با افزایش تراکم مویرگی در CA1 و شکنج دندانه‌دار، تقویت حافظه فضایی و عملکرد شناختی از طریق رگزایی و تنظیم اکسید نیتریک نشان دادند (۱۲).

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی که در طول تمرین هوازی آزاد می‌شود، رگ‌زایی و نوروژنز هیپوکامپ را ارتقا می‌دهد که به افزایش مویرگ‌ها کمک می‌کند (۱۳). یک متاآنالیز کارآزمایی‌های کنترل شده نشان داد که تمرین ورزشی تأثیر مثبتی بر حجم کل هیپوکامپ، به ویژه در جمعیت‌های مسن‌تر و مداخلاتی که بیش از ۲۴ هفته تمرین ورزشی با شدت متوسط داشتند، دارد (۱۴). اگرچه تأثیرات خاص تمرین ورزشی بر تعداد مقاطع، طول، حجم و مساحت مویرگ‌ها در بافت هیپوکامپ به طور اختصاصی بررسی نشده است، اما به طور کلی یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین ورزشی می‌تواند تأثیر مفیدی بر پارامترهایی همچون رگ‌زایی و نوروژنز داشته باشد. از سوی دیگر در دهه‌های اخیر، گیاه اورتیکا دیویکا (Urtica dioica) از خانواده (Urticaceae) که معمولاً به عنوان گزنه شناخته می‌شود، به دلیل فعالیت‌های دارویی مختلف آن مورد مطالعه محققان قرار گرفته است (۱۷–۱۵). این گیاه به دلیل سازگاری با محیط‌ها و شرایط آب و هوایی مختلف در اروپا، آفریقا، آمریکا و بخشی از آسیا پراکنده است. ترکیبات شیمیایی زیستی فعالی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، اسیدهای آمینه، کاروتنوئیدها و اسیدهای چرب از این گیاه جدا شده است (۱۵). همچنین گیاه گزنه حاوی اثرات فارماکولوژیک عالی از جمله اثرات ضد ویروسی، ضد میکروبی، ضد سرطان، نفروپروتکتیو، محافظ کبد، محافظت از قلب، ضد آرتریت، ضد دیابت، ضد اندومتریوز، آنتی اکسیدان، ضد التهاب، اثرات ضد پیری و دارای اثرات محافظت کننده عصبی است و به طور بالقوه می‌تواند در درمان بیماری‌های عصبی استفاده شود (۱۷و۱۶).

یک مطالعه نشان داد که عصاره آبی گزنه باعث افزایش وابسته به دوز در تون پایه آئورت جدا شده موش صحرایی می‌شود که نشان دهنده انقباض عروق است (۱۸). مطالعه دیگری نشان داد که عصاره گزنه با ترشح انسولین و افزایش تکثیر سلول‌های بتا در لوزالمعده به کاهش سطح گلوکز پلاسما کمک می‌کند (۱۹). این نشان می‌دهد که گزنه ممکن است یک اثر دوگانه بر روی شبکه عروقی داشته باشد و به طور بالقوه باعث انقباض عروق شود و در عین حال کنترل گلوکز را نیز بهبود بخشد. تحقیقات بیشتری برای درک کامل مکانیسم‌ها و اثرات منفی بالقوه گزنه بر شبکه عروقی و ساختار مویرگی مورد نیاز است.

با توجه به اهمیت جایگاه هیپوکامپ در حافظه و یادگیری، بررسی ساختار مویرگی هیپوکامپ می‌تواند بینشی در مورد مکانیسم‌های عصبی زیربنایی این فرآیندهای شناختی ارائه دهد. تمرینات ورزشی و گزنه هر دو دارای خواص محافظت کننده عصبی هستند و بررسی تأثیر آن‌ها بر ساختار مویرگی هیپوکامپ می‌تواند مزایای بالقوه‌ای را برای حفظ یا بهبود عملکرد هیپوکامپ، به ویژه در زمینه زوال شناختی مرتبط با سن یا اختلالات نورودژنراتیو نشان دهد. شبکه مویرگی در هیپوکامپ نقش مهمی در تامین مواد مغذی، اکسیژن و سایر اجزای ضروری برای حمایت از فعالیت عصبی و انعطاف پذیری دارد. درک اینکه چگونه ورزش و گزنه ممکن است ساختار مویرگی را تعدیل کنند، می‌تواند تأثیر آن‌ها را بر روی نوروپلاستیسیته و سلامت کلی هیپوکامپ روشن کند. بنابراین، انجام یک مطالعه بر روی اثرات ترکیبی ورزش و گزنه بر ساختار مویرگ هیپوکامپ می‌تواند بینش‌های ارزشمندی را در مورد استراتژی‌های درمانی بالقوه برای افزایش سلامت مغز و توانایی‌های شناختی ارائه دهد. بر همین اساس این مطالعه با هدف بررسی تاثیر شش هفته تمرین استقامتی و مصرف عصاره گزنه بر تعداد مقاطع، طول، حجم و مساحت مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی سالم انجام شده است.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تایید در کمیته اخلاق دانشگاه لرستان با کد LU.ECRA.2019.17 ، بر روی ۲۸ موش صحرایی نر نژاد ویستار ۶ هفته‌ای که به صورت تصادفی از مرکز نگهداری حیوانات وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان تهیه شدند، انجام شد. پس از انتقال نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه، موش‌ها در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف واقع در اتاقی با چرخه ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی و دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طول این مدت دسترسی آزاد به آب و غذا به موش‌ها داده شد. پس از یک دوره یک هفته‌ای که موش‌ها با شرایط جدید آزمایشگاهی سازگار شدند، مرحله آشناسازی دویدن بر روی تردمیل آغاز شد. این مرحله شامل پنج جلسه بود که هر یک بین ۱۰ تا ۱۵ دقیقه طول کشید و تردمیل با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر در دقیقه تنظیم شد (۲۰). سپس، موش‌ها با استفاده از روش تخصیص تصادفی به چهار گروه مساوی ۷ تایی کنترل (Control)، تمرین استقامتی (Endurance Training= Ex)، گزنه (Urtica Dioica= UD) و تمرین استقامتی+گزنه (Endurance Training+Urtica Dioica= Ex+UD) تقسیم شدند.

عصاره هیدروالکلی گزنه (جمع آوری، آماده سازی، مقدار مصرف): گیاه گزنه، از قالی‌کوه قله‌هایی در رشته کوه زاگرس واقع در استان لرستان شناسایی و تهیه شد. پس از تایید در هرباریوم سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان (شماره نمونه: ۱۳/۷۷۶)، اجزای هوایی گیاه گزنه در شرایط تاریک و بدون رطوبت، نگهداری، خشک و آسیاب شد. به منظور تولید عصاره هیدروالکلی گیاه گزنه، ۵۰۰ گرم پودر گیاه خشک شده با ۷۰٪ اتانول ترکیب و به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شد. ماده حاصل از طریق صافی شماره ۲ واتمن دو مرتبه فیلتر شد. برای کاهش حجم حلال و تسهیل تبخیر اتانول، به یک دستگاه روتاری تنظیم شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد و پس از آن عصاره در یک انکوباتور در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا اتانول کاملاً تبخیر شود و در نتیجه عصاره گیاه خشک به دست آید. این عصاره متعاقباً تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری شد (۲۱). به گروه‌های تعیین شده برای دریافت گزنه، عصاره هیدروالکلی گزنه به مقدار ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن موش، حل شده در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت روزانه و به مدت ۶ هفته به صورت خوراکی از طریق گاواژ تجویز شد (۲۱).

پروتکل تمرین استقامتی: پروتکل تمرین استقامتی با استفاده از تردمیل به مدت ۵ روز در هفته و در مجموع ۶ هفته، در سطح شدت متوسط در گروه‌هایی که مجاز به ورزش کردن بودند، انجام شد. جلسات تمرینی شامل سه بخش گرم کردن به مدت ۳ دقیقه و به دنبال آن تمرین اصلی که بین ۱۰ تا ۳۰ دقیقه متغیر بود و با یک دوره سرد کردن ۳ دقیقه‌ای بود. سرعت و مدت تمرین اصلی به تدریج از هفته اول تا ششم افزایش یافت به طوری که سرعت و مدت تمرین در هفته اول ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و هفته دوم ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه بود. هفته سوم ۱۵–۱۴ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه و در هفته‌های ۴ و ۵ به ترتیب ۱۵–۱۴ متر در دقیقه و ۱۸–۱۷ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه بود. برای دستیابی به ثبات، سرعت و زمان تمرین با تردمیل در هفته ششم ثابت نگه داشته شد (۲۲).

تشریح: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین استقامتی و دریافت عصاره هیدروالکلی گزنه، تمامی موش‌ها با استنشاق ۲٪ هالوتان در مخلوطی از ۳۰٪ O_2 و ۷۰٪ N_2O بیهوش شدند و با ۱۰۰ میلی‌لیتر نرمال سالین و به دنبال آن ۲۵۰ میلی‌لیتر پارفورمالدئید ٪ در بافر فسفات ۰/۱ میلی‌گرم (pH=۷/۴) پرفیوژن شدند (۲۲). بعد از اتمام پرفیوژن، سر حیوانات جدا شد و مغز آن‌ها با دقت خارج گردید و تا زمان انجام فرآیند بافت شناسی به محلول تثبیت کننده (فرمالین ۱۰٪) منتقل شدند.

مطالعه بافتی: مطالعات استریولوژی بافت هیپوکامپ به کمک رنگ آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین انجام شد. برای اجرای رنگ آمیزی بافتی هماتوکسیلین–ائوزین، به ترتیب مراحل تابت سازی، آبگیری، شفاف سازی و قالب گیری انجام شد. سپس با استفاده از میکروتوم برش‌های متوالی کرونال به ضخامت ۵ میکرومتر برای چسباندن بر روی لام‌ها تهیه شد. در مرحله بعدی لام‌ها با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (۲۲). تمامی مطالعات بافتی با روش‌های استریولوژی در۲۰ زمینه (filed)، با استفاده از میکرسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ به طور تصادفی محاسبه شد.

ارزیابی طول کل مویرگ‌ها در SR (Survival Rate) بافت هیپوکامپ: بر اساس فرمول ($LV_{(cap/SR)}=2*\Sigma Q_{(cap/SR)} / \Sigma A$)، $\Sigma Q_{(cap/SR)}$ به معنی تعداد کل پروفیل‌های مویرگی در ناحیه هیپوکامپ شمارش شده در هر موش است. ΣA مساحت کل فریم‌های شمارش مورد استفاده در هر موش را نشان می‌دهد.

حجم کل مویرگ‌ها در SR (Survival Rate) بافت هیپوکامپ: هر تصویر گرفته شده به طور تصادفی در یک شبکه نقطه‌ای شفاف قرار گرفت. کسر حجمی مویرگ‌ها با استفاده از فرمول $VV_{(cap/SR)}= \Sigma P_{(cap/SR)} /\Sigma P$ تجزیه و تحلیل شد.

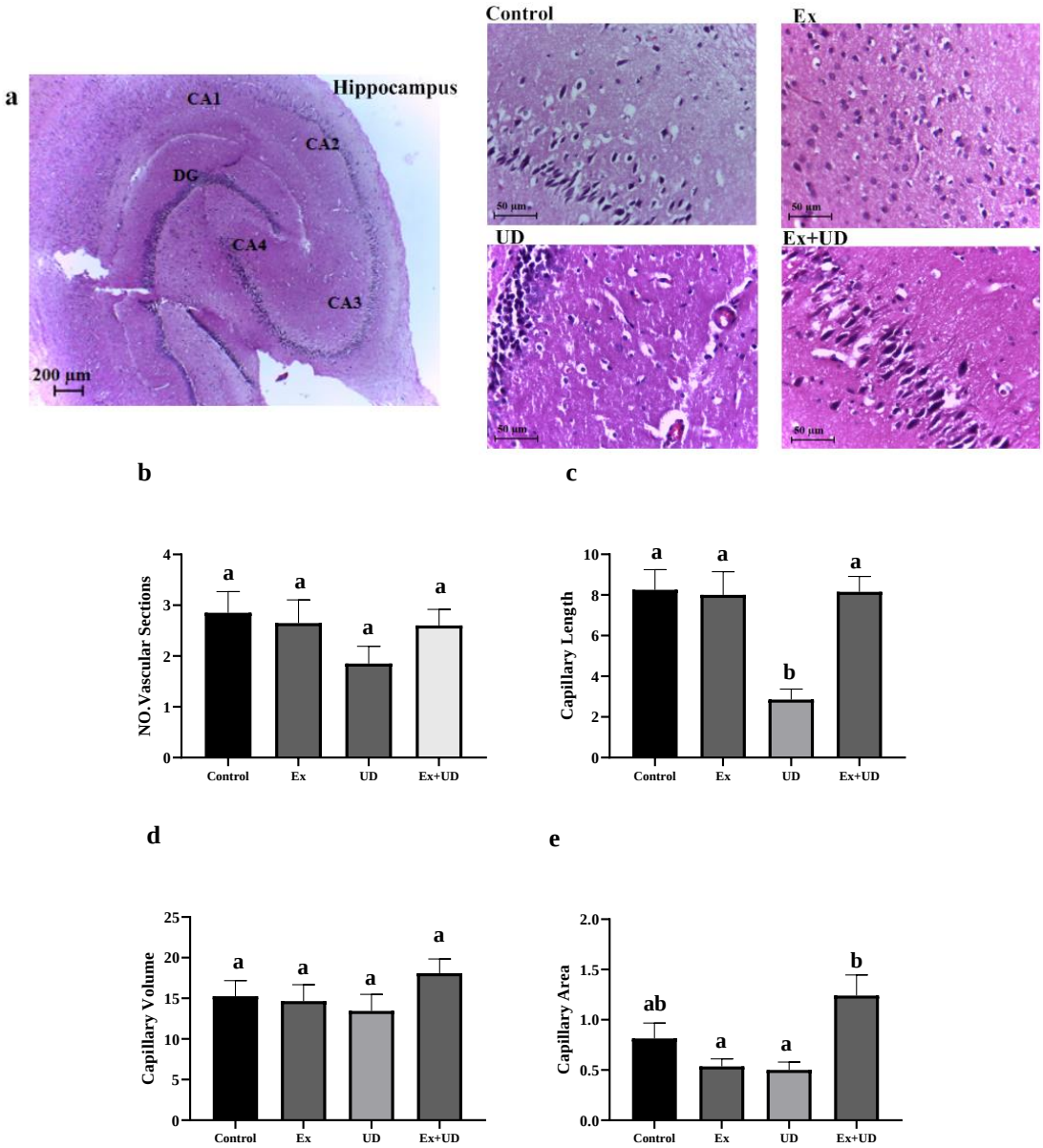
مساحت کل مویرگ‌ها در SR (Survival Rate) بافت هیپوکامپ: مساحت استفاده شده توسط مویرگ‌ها در SR با معادله $SV_{(cap/SR)}= 2 \times \Sigma L_{(cap)}/\Sigma L$ برآورد شد. گسترش $SV_{(cap/SR)}$ از طریق حجم (V (SR)) SR استفاده شد (۲۴و۲۳).

پس از گردآوری داده‌ها، از آزمون شاپیرو–ویلک برای ارزیابی توزیع نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. با توجه به غیر نرمال بودن داده‌ها، آزمون کروسکال والیس برای بررسی اختلاف معنی‌داری در مقادیر میانگین بین گروه‌ها در زمینه مطالعات استریولوژی بافت هیپوکامپ در نظر گرفته شد و سپس از آزمون تعقیبی اصلاح شده بونفرونی برای مقایسه جفتی گروه‌ها استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در محیط نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

یافته ها

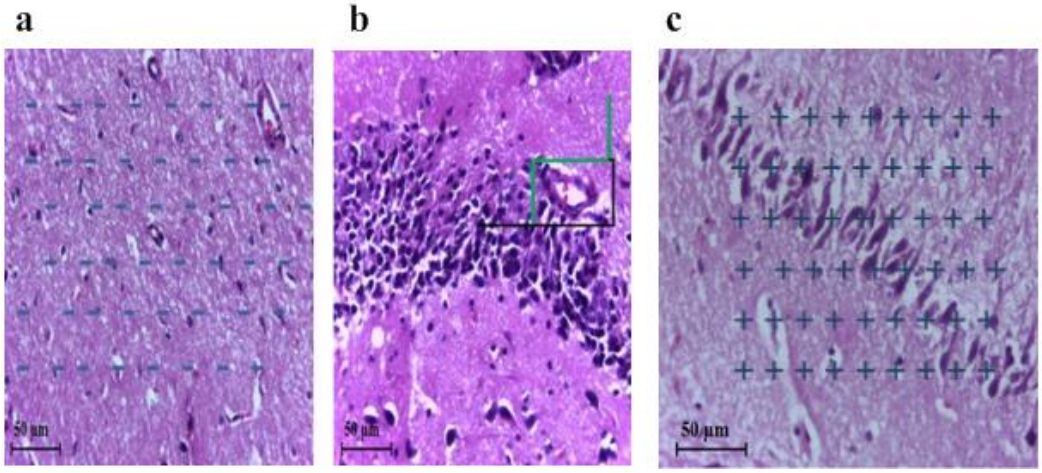
نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مطالعه در پارامترهای تعداد مقاطع عروقی (p=۰/۲۹۵، $\chi2(۴)$=۳/۷۰۲)، حجم مویرگ‌های (p=۰/۲۷۵، $\chi2(۴)$=۳/۸۷۹) در بافت هیپوکامپ وجود نداشت (شکل ۱ بخش‌های d و b). در مقابل، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه در پارامترهای مساحت (p=۰/۰۲۶، $\chi2(۴)$=۹/۲۳۱) و طول مویرگ‌های (p<۰/۰۰۱، $\chi2(۴)$=۲۱/۱۴۳) بافت هیپوکامپ وجود داشت. مقایسه گروه‌ها نشان داد که طول مویرگ‌ها در گروه UD (۰/۵۲±۲/۸۵ میلی‌متر) نسبت به گروه کنترل (۰/۹۹±۸/۲۵ میلی‌متر) کمتر بود (p=۰/۰۰۱)، اما اجرای تمرین استقامتی به تنهایی و در کنار مصرف گزنه در گروه‌های Ex (۱/۱۴±۸ میلی‌متر) و Ex+UD (۰/۷۷±۸/۱۵ میلی‌متر) نسبت به گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را در طول مویرگ‌ها ایجاد نکرد. به علاوه، طول مویرگ‌های هیپوکامپ موش‌های گروه UD به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های Ex و Ex+UD بود (p=۰/۰۰۱) (شکل ۱ بخش c).



شکل ۱. تخمین‌های هیستوموروفومتری مقاطع عروقی (تعداد)، طول (میلی‌متر)، حجم (میلی‌متر مکعب) و مساحت (میلی‌متر مربع) مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی. (a) رنگ‌آمیزی H&E برای آشکار کردن پارتیشن هیپوکامپ در گروه‌های مورد مطالعه کنترل (Control)، تمرین استقامتی (Ex)، گزنه (UD) و تمرین استقامتی+گزنه (Ex+UD) (نوار مقیاس= ۵۰ میکرومتر). Mean±SD پارامترهای مورد مطالعه در بخش (b-e) گزارش شده است.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

همچنین، مقایسه گروه‌ها در بررسی مساحت مویرگ‌ها نشان داد که اجرای تمرین استقامتی وگزنه به تنهایی و همراه با هم در گروه‌های Ex، UD و Ex+UD نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما مساحت مویرگ‌ها در گروه Ex+UD (۱/۲۴±۰/۲۱میلی‌متر مربع) نسبت به گروه‌های Ex (۰/۵۳۵±۰/۰۷۶میلی‌متر مربع) (p=۰/۰۱۳) و UD (۰/۵±۰/۰۸میلی‌متر مربع) (p=۰/۰۱۰) افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) (شکل ۱ بخش e). روش محاسبه مساحت سطح مویرگی، طول مویرگی و حجم مویرگی بافت هیپوکامپ در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲. روش محاسبه (a) مساحت سطح مویرگی (مساحت استفاده شده توسط مویرگ‌ها در یک قاب خاص با قرار دادن آن‌ها بر روی خطوط الگو (نوار مقیاس= ۵۰ میکرومتر)). (b) طول مویرگی (هر تصویر گرفته شده بر روی یک قاب شمارش بی طرفانه قرار می‌گیرد. تنها عروقی که در قاب و لمس خط سیاه در نظر گرفته شد). (c) حجم مویرگی (تعداد برخورد در هر مویرگی با الگوریتم درون قاب محاسبه شد) در بافت هیپوکامپ.

بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج به دست آمده، تعداد مقاطع عروقی، طول، حجم و مساحت مویرگ‌ها پس از شش هفته اجرای تمرین استقامتی به نسبت مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش‌های گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشتند. برخلاف انتظار، مصرف گزنه نیز تاثیر منفی بر طول مویرگ‌ها داشت و سبب کاهش غیر معنی‌داری تعداد مقاطع عروقی و مساحت مویرگ‌ها شد. علاوه بر این، ترکیب تمرین استقامتی همراه با مصرف گزنه نسبت به اجرای تکی این پروتکل‌ها باعث شد که تعداد مقاطع عروقی، طول، حجم و مساحت مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش‌های این گروه در حد گروه کنترل حفظ شود و دستخوش تغییرات معنی‌داری نشود. متأسفانه، تاکنون مطالعه خاصی مستقیماً تأثیرات گیاه گزنه بر ساختار مویرگی هیپوکامپ را بررسی نکرده است. بیشتر مطالعات موجود بر روی اثرات بالقوه این گیاه بر سایر جنبه‌های مغز و عملکرد شناختی متمرکز شده است (۲۵و۲۲) و مطالعه‌ای به بررسی تاثیر گزنه بر ساختار مویرگی هیپوکامپ نپرداخته است.

مطالعه Wodi و همکاران به ارزیابی سم شناسی گسترده گیاهان مورد استفاده خوراکی رایج و مخلوط آن‌ها در درمان‌های خانگی پرداخته بودند. در این مطالعه دریافتند که مصرف مزمن عصاره‌های زنجبیل، سیر و لیمو منجر به مسمومیت در سطح اندام، از جمله آسیب به کبد، کلیه، اپیتلیوم روده، معده و پانکراس می‌شود (۲۶). مطالعه همسوی دیگری نشان داد که تتراکلرید کربن که یک ماده شیمیایی مضر برای کبد است، می‌تواند فعالیت محافظت کبدی گیاهان دارویی مختلف را کاهش دهد. گیاهان حاوی مواد شیمیایی با خواص آنتی اکسیدانی هستند که می‌توانند سلول‌های کبد را از التهاب و آسیب اکسیداتیو محافظت کنند (۲۷). علاوه بر این، مطالعه Uduchi و همکاران خطرات بالقوه عصاره‌های گیاهی خاص را بر عملکرد کلیه در دیابت مورد بحث قرار داد. در حالی که برخی از عصاره‌های گیاهی ممکن است اثرات مفیدی بر عملکرد کلیه داشته باشند، برخی دیگر می‌توانند عملکرد کلیه را مختل کنند (۲۸). بنابراین، هنگام استفاده از گیاهان دارویی باید احتیاط کرد و تحقیقات بیشتری برای تعیین دوزهای ایمن و مؤثر برای استفاده از آن‌ها مورد نیاز است (۲۹).

نشان داده شده است که تمرین استقامتی اثرات مثبتی بر ساختار عروقی در مغز و هیپوکامپ سالم دارد. یک برنامه تمرین استقامتی شش ماهه در بزرگسالان کم تحرک جوان منجر به افزایش پرفیوژن مغز در ناحیه خاص، به ویژه در شکنج گیجگاهی فوقانی راست و جسم مخطط شکمی، که با افزایش حداکثر جذب اکسیژن مرتبط بود، شد (۳۰). تمرین استقامتی رقابتی طولانی مدت در بزرگسالان میان‌سال تا مسن‌تر نیز منجر به افزایش ضخامت قشر در چندین ناحیه مغز، از جمله قشر پیش پیشانی میانی و شکنج مرکزی پیش و پس از آن شد که نشان‌دهنده توسعه ذخیره قشر مغز است (۳۱).

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

علاوه بر این، یک مداخله ورزشی یک هفته‌ای در مردان جوان سالم منجر به تغییرات ریزساختاری در مغز، از جمله کاهش کسر محدود شده در جسم پینه‌ای و افزایش ناهمسان‌گردی کسری شد که نشان دهنده بهبود یکپارچگی آکسون است (۳۲). این یافته‌ها نشان می‌دهد که ورزش‌های استقامتی کوتاه مدت و طولانی مدت می‌توانند اثرات مفیدی بر مغز سالم و هیپوکامپ داشته باشند.

طبق تخمین‌های بی‌طرفانه این پارامترها در مطالعه ما، این احتمال وجود دارد که شش هفته، زمان کمی برای ایجاد تغییرات مثبت در ساختار مویرگ‌های بافت هیپوکامپ موش سالم باشد و شاید نیاز به دوره طولانی‌تری باشد. گزارش شده است بیماری‌های مغزی مانند آلزایمر سبب تغییرات عروقی می‌شوند و بدن پس از اجرای مداخلاتی غیر دارویی همچون تمرینات ورزشی به دنبال ایجاد ثبات و برطرف کردن تغییرات منفی است، اما در بدن سالم اگر بخواهیم شاهد تغییرات مطلوب باشیم نیاز به دوره‌های طولانی‌تر دارد. جالب‌تر اینکه در همین دوره، برخلاف تصور ما گیاه گزنه، باعث کاهش معنی‌دار طول مویرگ‌های هیپوکامپ موش سالم شد و تنها در کنار تمرین استقامتی، ساختار مویرگی حفظ شد.

در نهایت، نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که مصرف گزنه در موش‌های صحرایی سالم تأثیر مثبتی بر پارامترهای هیستوموروفومتری بافت هیپوکامپ نداشت. با این حال، در مطالعه‌ای مشخص شده است که عصاره گزنه، هنگامی که با تمرینات استقامتی ترکیب می‌شود، تأثیر قابل توجهی بر افزایش سطح پروتئین شوک حرارتی در مغز دارد که ممکن است شرایط محافظت عصبی را در بیماران دیابتی بهبود بخشد (۳۴و۳۳). این نشان می‌دهد که اثرات مثبت گزنه ممکن است در صورت ترکیب با ورزش افزایش یابد. به علاوه هم‌افزایی تمرینات استقامتی و عصاره برگ گزنه در مطالعه Haghshenas و همکاران نشان داد که مسیر نامتعادل IDO1-KYN-AHR در کبد موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت ناشی از استرپتوزوتوسین پس از ترکیب تمرینات استقامتی و گزنه بازیابی شد (۳۵). اگرچه این مطالعات بینش‌های ارزشمندی را در مورد تأثیرات تمرینات استقامتی و گزنه بر جنبه‌های مختلف عملکرد و ساختار مغز و ارگان‌های بدن ارائه می‌دهند، اما هیچ تحقیق خاصی در مورد هم‌افزایی این مداخلات بر روی ساختار عروقی مغز و هیپوکامپ وجود ندارد.

در نهایت، این مطالعه نشان داد که اثرات منفی گزنه بر ساختار مویرگی بافت هیپوکامپ موش‌های سالم توسط تمرین استقامتی تعدیل شد. جالب اینکه این دو مداخله در کنار هم عملکرد بهتری نسبت به اجرای تکی داشتند، هرچند که این ترکیب تغییرات معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل در ساختار مویرگی بافت هیپوکامپ موش‌های سالم ایجاد نکردند. این مطالعه نشان می‌دهد که گیاهان دارویی شناخته شده نیز باید با احتیاط مصرف شوند.

تضاد منافع: نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری صمیمانه مسئولین و پرسنل مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان در انجام این پژوهش قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

References

1.Murrant CL, Fletcher NM. Capillary communication: the role of capillaries in sensing the tissue environment, coordinating the microvascular, and controlling blood flow. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2022;323(5):H1019-36.
2.Kissane RWP, Al-Shammari AA, Egginton S. The importance of capillary distribution in supporting muscle function, building on Krogh's seminal ideas. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 2021;254:110889.
3.Kolka CM. The vascular endothelium plays a role in insulin action. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2020;47(1):168-75.
4.Alarcon-Martinez L, Yilmaz-Ozcan S, Yemisci M, Schallek J, Kılıç K, Can A, et al. Capillary pericytes express α-smooth muscle actin, which requires prevention of filamentous-actin depolymerization for detection. Elife. 2018;7:e34861.
5.Attrill E, Ramsay C, Ross R, Richards S, Sutherland BA, Keske MA, et al. Metabolic-vascular coupling in skeletal muscle: A potential role for capillary pericytes?. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2020;47(3):520-8.
6.Sargent SM, Bonney SK, Li Y, Stamenkovic S, Takeno MM, Coelho-Santos V, et al. Endothelial structure contributes to heterogeneity in brain capillary diameter. Vasc Biol. 2023;5(1):e230010.
7.Suzuki H, Takeda H, Takuwa H, Ji B, Higuchi M, Kanno I, et al. Capillary responses to functional and pathological activations rely on the capillary states at rest. J Cereb Blood Flow Metab. 2023;43(6):1010-24.
8.Hayden MR. Brain Endothelial Cells Play a Central Role in the Development of Enlarged Perivascular Spaces in the Metabolic Syndrome. Medicina (Kaunas). 2023;59(6):1124.
9.Chen L, Zhou C, Tan C, Wang F, Gao Y, Huang C, et al. Stereological Study on the Positive Effect of Running Exercise on the Capillaries in the Hippocampus in a Depression Model. Front Neuroanat. 2017;11:93.
10.Løkkegaard A, Nyengaard JR, West MJ. Stereological estimates of number and length of capillaries in subdivisions of the human hippocampal region. Hippocampus. 2001;11(6):726-40.
11.Eid T, Brines ML, Cerami A, Spencer DD, Kim JH, Schweitzer JS, et al. Increased expression of erythropoietin receptor on blood vessels in the human epileptogenic hippocampus with sclerosis. J Neuropathol Exp Neurol. 2004;63(1):73-83.
12.Kaiser A, Reneman L, Solleveld MM, Coolen BF, Scherder EJA, Knutsson L, et al. A Randomized Controlled Trial on the Effects of a 12-Week High- vs. Low-Intensity Exercise Intervention on Hippocampal Structure and Function in Healthy, Young Adults. Front Psychiatry. 2022;12:780095.
13.Vonderwalde I, Kovacs-Litman A. Aerobic exercise promotes hippocampal neurogenesis through skeletal myofiber-derived vascular endothelial growth factor. J Physiol. 2018;596(5):761-3.
14.Wilckens KA, Stillman CM, Waiwood AM, Kang C, Leckie RL, Peven JC, et al. Exercise interventions preserve hippocampal volume: A meta-analysis. Hippocampus. 2021;31(3):335-47.
15.Semwal P, Rauf A, Olatunde A, Singh P, Zaky MY, Islam MM, et al. The medicinal chemistry of Urtica dioica L.: from preliminary evidence to clinical studies supporting its neuroprotective activity. Nat Prod Bioprospect. 2023;13(1):16.
16.Li W, Wu ZW, Li XB, Chen Y, Wang MY. [Chemical constituents from Urtica dioica fruits]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2022;47(18):4972-7. [Chinese]

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

17.Daneshmand P, Saliminejad K, Dehghan Shasaltaneh M, Kamali K, Riazi GH, Nazari R, et al. Neuroprotective Effects of Herbal Extract (Rosa canina, Tanacetum vulgare and Urtica dioica) on Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. Avicenna J Med Biotechnol. 2016;8(3):120-5.

18.Ghorbanibirgani A, Khalili A, Zamani L. The efficacy of stinging nettle (urtica dioica) in patients with benign prostatic hyperplasia: a randomized double-blind study in 100 patients. Iran Red Crescent Med J. 2013;15(1):9-10.

19.Legssyer A, Ziyyat A, Mekhfi H, Bnouham M, Tahri A, Serhrouchni M, et al. Cardiovascular effects of Urtica dioica L. in isolated rat heart and aorta. Phytother Res. 2002;16(6):503-7.

20.Rahmati M, Kazemi A. Various exercise intensities differentially regulate GAP-43 and CAP-1 expression in the rat hippocampus. Gene. 2019;692:185-94.

21.Rahmati M, Keshvari M, Mirnasouri R, Chehelcheraghi F. Exercise and Urtica dioica extract ameliorate hippocampal insulin signaling, oxidative stress, neuroinflammation, and cognitive function in STZ-induced diabetic rats. Biomed Pharmacother. 2021;139:111577.

22.Keshvari M, Rahmati M, Mirnasouri R, Chehelcheraghi F. Effects of endurance exercise and Urtica dioica on the functional, histological and molecular aspects of the hippocampus in STZ-Induced diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2020;256:112801.

23.Habibi M, Chehelcheraghi F. Effect of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Sheets on Skin Capillary Parameters in a diabetic wound model: A Novel Preliminary Study. Iran Biomed J. 2021;25(5):334-42.

24.Mathieu C, Chevrier A, Lascau-Coman V, Rivard GE, Hoemann CD. Stereological analysis of subchondral angiogenesis induced by chitosan and coagulation factors in microdrilled articular cartilage defects. Osteoarthritis Cartilage. 2013;21(6):849-59.

25.Rahmati M, Keshvari M, Xie W, Yang G, Jin H, Li H, et al. Resistance training and Urtica dioica increase neurotrophin levels and improve cognitive function by increasing age in the hippocampus of rats. Biomed Pharmacother. 2022;153:113306.

26.Wodi C, Ezaka E, Ukwah BN, Eze UA. Organ wide toxicological assessment of common edible herbs and their mixtures as used in home remedies. Environ Anal Health Toxicol. 2023;38(2):e2023012.

27.Firdous SM, Fayed MAA. Effects of Medicinal Plants on Carbon Tetrachloride-Induced Liver Injury: A Review. INNOSC Theranostics Pharmacol Sci. 2021;4(2):23-32.

28.Uduchi IO, Nnaemeka O, Opara AU, Ilo CE, Obeagu EI, Ogenyi SI. Curative and Toxic Effects of Selected Medicinal Plants on Internal Organs of Rattus albus Experimentally Infected with Human Intestinal Parasites. J Adv Med Pharm Sci. 2022;24(4):28-43.

29.Musabayane CT. The effects of medicinal plants on renal function and blood pressure in diabetes mellitus. S Afr J Diabetes Vasc Dis. 2014;11(3):115-20.

30.Upadhyay N, Schörkmaier T, Maurer A, Claus J, Scheef L, Daamen M, et al. Regional cortical perfusion increases induced by a 6-month endurance training in young sedentary adults. Front Aging Neurosci. 2022;14:951022.

31.Wood KN, Nikolov R, Shoemaker JK. Impact of Long-Term Endurance Training vs. Guideline-Based Physical Activity on Brain Structure in Healthy Aging. Front Aging Neurosci. 2016;8:155.

32.Wagner G, Herbsleb M, de la Cruz F, Schumann A, Brünner F, Schachtzabel C, et al. Hippocampal structure, metabolism, and inflammatory response after a 6-week intense aerobic exercise in healthy young adults: a controlled trial. J Cereb Blood Flow Metab. 2015;35(10):1570-8.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]

33.Aldulaimi AMA, Al Jumaily AAIH, Husain FF, editors. The effect of aqueous Urtica dioica extract in male rats exposed to copper sulfate poisoning. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci. 2021;735:012008.
34.Ebrahimzadeh Peer M, Fallahmohammadi Z, Akbari A. The effect of progressive endurance training and extract of black winter truffle on proteins levels and expression of hippocampus α-synuclein and HSF1 in the healthy and diabetic rats. Metabol Open. 2023;17:100232.
35.Haghshenas R, Aftabi Y, Doaei S, Gholamalizadeh M. Synergistic effect of endurance training and nettle leaf extract on the IDO1-KYN-AHR pathway homeostasis and inhibiting of liver toxicity in rats with STZ-induced diabetes. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1071424.

[DOI: 10.22088/jbums.27.1.23]